Aus den Forschungslaboratorien der Schering AG,
Berlin / Bergkamen

Die isoliert perfundierte Rattenniere als Modell für pharmakologische Untersuchungen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Monika Förster
Berlin

1974

Aus den Forschungslaboratorien der Schering AG,
Berlin / Bergkamen

Die isoliert perfundierte Rattenniere als Modell für pharmakologische Untersuchungen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Monika Förster
Berlin

Referent: Prof. Dr. Dr. E. Gerhards

Korreferent: Prof. Dr. K. Hierholzer

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Promoviert am: 29.4.1974

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG
1.1. Was bedeutet Nierenperfusion?
1.2. Historisches zu den Durchströmungsmethoden isolierter Nieren
1.3. Grundlagen des Perfusionsmodells dieser Arbeit
2. PROBELMSTELLUNG
3. METHODIK
3.1. Tiermaterial
3.2. Narkose
3.3. Operationstechnik
3.4. Perfusionsapparatur
3.5. Perfusionsmedium
3.6. Chemische Bestimmungsmethoden
3.6.1. Glucose
3.6.2. Natrium, Kalium
3.6.3. Inulin
3.6.4. Lactat, Pyruvat
3.7. Bestimmung biochemischer Parameter
3.7.1. Sauerstoffaufnahme des Nierengewebes in vitro
3.7.2. Lactat/Pyruvat-Quotient von Nierengewebe in vitro
3.7.3. Gluconeogenese in vitro mit Pyruvat als Substrat
3.8. Bestimmung von Glymidin
3.9. Bestimmung physiologischer Größen
3.9.1. Arteriovenöse Durchflußrate
3.9.2. Harnvolumen
3.9.3. Inulin-Clearance
3.9.4. Resorption von Natrium, Kalium, Wasser und Glucose
4. VERSUCHSABLAUF
4.1. Bereitung des Perfusionsmediums
4.2. Aufbau und Bedienung der Perfusionsapparatur
4.3. Operation
4.3.1. Instrumente und Materialien
4.3.2. Durchführung
4.4. Perfusionsablauf

5. ERGEBNISSE
5.1. Physiologie
5.1.1. Arteriovenöse Durchflußrate
5.1.2. Inulin-Clearance
5.1.3. Harnvolumen
5.1.4. Natrium-, Kalium-Resorption
5.1.5. Wasser-Resorption
5.1.6. Glucose-Resorption
5.2. Biochemie
5.2.1. Sauerstoffverbrauch von Nierenschnitten in vitro
5.2.2. Lactat/Pyruvat-Quotient von Nierengewebe
5.2.3. Gluconeogenese in vitro mit Pyruvat als Substrat
5.3. Pharmakokinetik (Glymidin-Resorption)
6. DISKUSSION
7. ZUSAMMENFASSUNG
8. LITERATURVERZEICHNIS
ANHANG ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS
APPARATE, INSTRUMENTE, MATERIALIEN
PHARMAKA UND CHEMIKALIEN

1. EINLEITUNG

1.1. Was bedeutet Nierenperfusion?

Bei der Perfusion der isolierten Niere wird das Organ nach Anschluß an ein künstliches Kreislaufsystem über die A. renalis extrakorporal durchströmt. Das ermöglicht Untersuchungen an der Niere ohne Beeinflussung durch den übrigen Organismus.

1.2. Historisches zu den Durchströmungsmethoden isolierter Nieren

Die erste Nierenperfusion beschrieb 1849 LOEBELL [70]. Er verwendete defibriniertes Blut. BIDDER [13] benutzte 1862 oxygeniertes, defibriniertes und filtriertes Blut aus der A. carotis eines Spendertieres, das durch Druck aus einem Blutreservoir direkt der A. renalis zugeführt wurde. LUDWIG [71] (1868/69) sowie BUNGE und SCHMIEDEBERG [17] (1877) sättigten das Blut mit Sauerstoff durch Schütteln an der Luft. SCHMIDT [101] wies 1869 zuerst auf die Konstanthaltung der Organtemperatur hin; er perfundierte isolierte Hundenieren in einem Wärmebehälter.

Die ersten Perfusionsversuche an isolierten Hundenieren galten dem Studium der Harnbereitung und -ausscheidung.

VON SCHRÖDER [102] erzielte 1882 eine Arterialisierung des venösen Blutes in seinem Blasenoxygenator durch Begasen mit Sauerstoff unter Druck. VON FREY und GRUBER [23] konstruierten 1885 den ersten Filmoxygenator, in dem Blut über einen rotierenden Metallzylinder floß, dem Sauerstoff zugeleitet wurde; sie arbeiteten mit einem geschlossenen System bei periodisch schwankendem Druck. JACOBJ [49] schuf 1890 eine leistungsfähigere Perfusionsapparatur, bestehend aus druckregulierter, thermostatisierter Blutzufuhr zur Niere, thermostatisiertem Organbehälter, Kohlensäureabsorber, Entschäumer im venösen Abfluß, Pumpe und Blasenoxygenator; registriert wurden Perfusionsdruck, Durchfluß- sowie Harnvolumina (Tab. 14 b).

BRODIE [16] perfundierte 1903 isolierte Hundenieren mit heterologem, thermostatisiertem und mit einem Antikoagulans (Leberextrakt, Hirudin oder Natriumzitrat) versetztem Blut. Er führte die niedrigen Durchflußvolumina der Niere auf den erhöhten Arteriolenwiderstand zurück. BAINBRIDGE und EVANS [3] entwickelten 1914

zur besseren Sauerstoffsättigung des Blutes und rhythmischen Durchströmung bei der Nierenperfusion ein Herz-Lungen-Präparat. In der Folgezeit beschrieben zahlreiche Autoren Verbesserungen für die Perfusionsmethodik isolierter Organe einerseits und andererseits für die Perfusionsapparaturen, insbesondere für die Oxygenatoren, so HOOKER [48] 1910, RICHARDS und DRINKER [93] 1915, VON EULER und HEYMANS [22] 1932 und im Jahre 1939 GIBBON jr. [33]. Der vertikal rotierende Scheibenoxygenator und die Rollenpumpe von GIBBON jr. waren wesentliche Verbesserungen für die Perfusion isolierter Organe und sind bis heute Gegenstand der Fortentwicklung.

Bei der Perfusion isolierter Nieren mit heparinisiertem oder defibriniertem Blut trat rasch eine Vasokonstriktion der Arteriolen auf, verursacht - wie man vermutete - durch Freisetzung von Vasotoninen, die man durch Einschaltung eines Organs (Leber, Lunge) in den Perfusionskreislauf zu inaktivieren versuchte. Dazu benutzten 1925 STARLING und VERNEY [106] ein Herz-Lungen-Präparat, nahm 1931 HEMINGWAY [40] eine Lunge und verwendeten 1937/39 BICKFORD, WINTON und KRAMER [12,57] ein Lungen-Nieren-Präparat in Verbindung mit einer Pumpe.

NIZET und Mitarbeitern [81,82] gelang es 1957, zwei vasokonstriktorisch wirkende Substanzen zu isolieren und zu analysieren, die von Erythrozyten freigesetzt werden, sobald sich Blut kurze Zeit außerhalb des Gefäßsystems befindet. Ihre Freisetzung kann durch die Verwendung frischen Blutes weitgehend vermieden werden; sie werden durch Lunge, Leber und Niere inaktiviert und sind bei Hämolyse vermehrt nachzuweisen, wie auch BAUMAN [5] 1963 mitteilte. In jüngerer Zeit werden bei der Perfusion isolierter Nieren neben Blut zunehmend Blutersatzflüssigkeiten verwendet (Tab. 14 a), so auch bei den Versuchen, die im Folgenden beschrieben werden.

1.3. Grundlagen des Perfusionsmodells dieser Arbeit

WEISS und Mitarbeiter [117] beschrieben 1959 eine Methode zur Perfusion der isolierten Rattenniere mit einem zellfreien Medium. Sie verwendeten dabei eine isotone Salzlösung mit 6 % Dextran. Nach einer späteren Arbeit [65] ersetzte WEISS das dextranhaltige Medium durch kolloidosmotisch isotone Haemaccel$^{(R)}$-Lösung mit

Glucose und Rinderalbumin. Zur weiteren Angleichung an physiologische Verhältnisse ergänzten WEISS und Mitarbeiter in neueren Arbeiten [15,118,96] die Perfusionsflüssigkeit durch zahlreiche Cofaktoren. Dieses Perfusionsmedium wurde für die vorliegende Arbeit verwendet. Unter den zuletzt von WEISS beschriebenen Perfusionsbedingungen wurden bei einem Perfusionsdruck von 90-140 mm Hg und einer Perfusionsstromstärke von 2-6 ml/min/g 0,02-0,04 ml Urin pro Minute gebildet. Die Clearance-Werte lagen dabei zwischen 0,15-0,65 ml/min/g. Bei diesen Versuchen von WEISS wurden in den ersten 45 Minuten von der perfundierten Niere ca. 99 % der filtrierten Glucose resorbiert. Die Natriumresorption fiel in diesem Zeitraum von 96 % auf 80 % ab.
Nach dem heutigen Stand der Perfusionstechnik für isolierte Rattennieren empfiehlt sich der Einsatz dieses Modells für Untersuchungen zur Nierenpharmakologie und zur Pharmakokinetik.

2. PROBLEMSTELLUNG

Für diese Arbeit mußte zunächst das von WEISS und Mitarbeitern beschriebene Modell zur Perfusion der isolierten Rattenniere aufgebaut werden.
Zur Prüfung der Funktionsfähigkeit dieses Systems sollten neben biochemischen Parametern die Durchflußrate, die glomeruläre Filtration, die tubuläre Resorptionsfähigkeit für Glucose, Natrium und Kalium sowie das Harnvolumen herangezogen werden.
Die Brauchbarkeit der isoliert perfundierten Rattenniere für nierenpharmakologische Untersuchungen sollte nur durch orientierende Versuche mit dem oralen Antidiabeticum Glymidin-Natrium geprüft werden. Diese Verbindung wird in vivo im Human- [26] und Tierversuch [55,29] tubulär fast vollständig resorbiert. Es sollte untersucht werden, ob diese Ausscheidungscharakteristik des Glymidins auch für die isoliert perfundierte Rattenniere gilt.

3. METHODIK

3.1. Tiermaterial

Für alle Versuche wurden männliche Wistar-Ratten (Züchter: Brünger, Bokel/Westf.) im Gewicht von 230-270 g verwendet. Wenn nicht anders vermerkt, erhielten die Tiere bis ca. 15 Stunden vor der Operation Latz-Standardkost für Ratten, danach Leitungswasser ad libitum bis zum Narkosebeginn.

3.2. Narkose

Die Tiere wurden durch intraperitoneale Injektion von 30 mg Nembutal(R) pro kg Körpergewicht narkotisiert. Die Zeit zwischen Injektion und Operationsbeginn betrug im Mittel 5 Minuten.

3.3. Operationstechnik

Sie wurde weitgehend nach der von WEISS und Mitarbeitern [117] beschriebenen Methode durchgeführt. Die Tiere wurden auf einem Operationstisch für kleine Labortiere (Fa. B. Braun, Melsungen, Modell 'Heuwig-Braun' Nr. 876030) in Rückenlage fixiert. Der Operationssitus ist in Abb. 1, der Operationsverlauf im Schema (Seite 10) dargestellt.

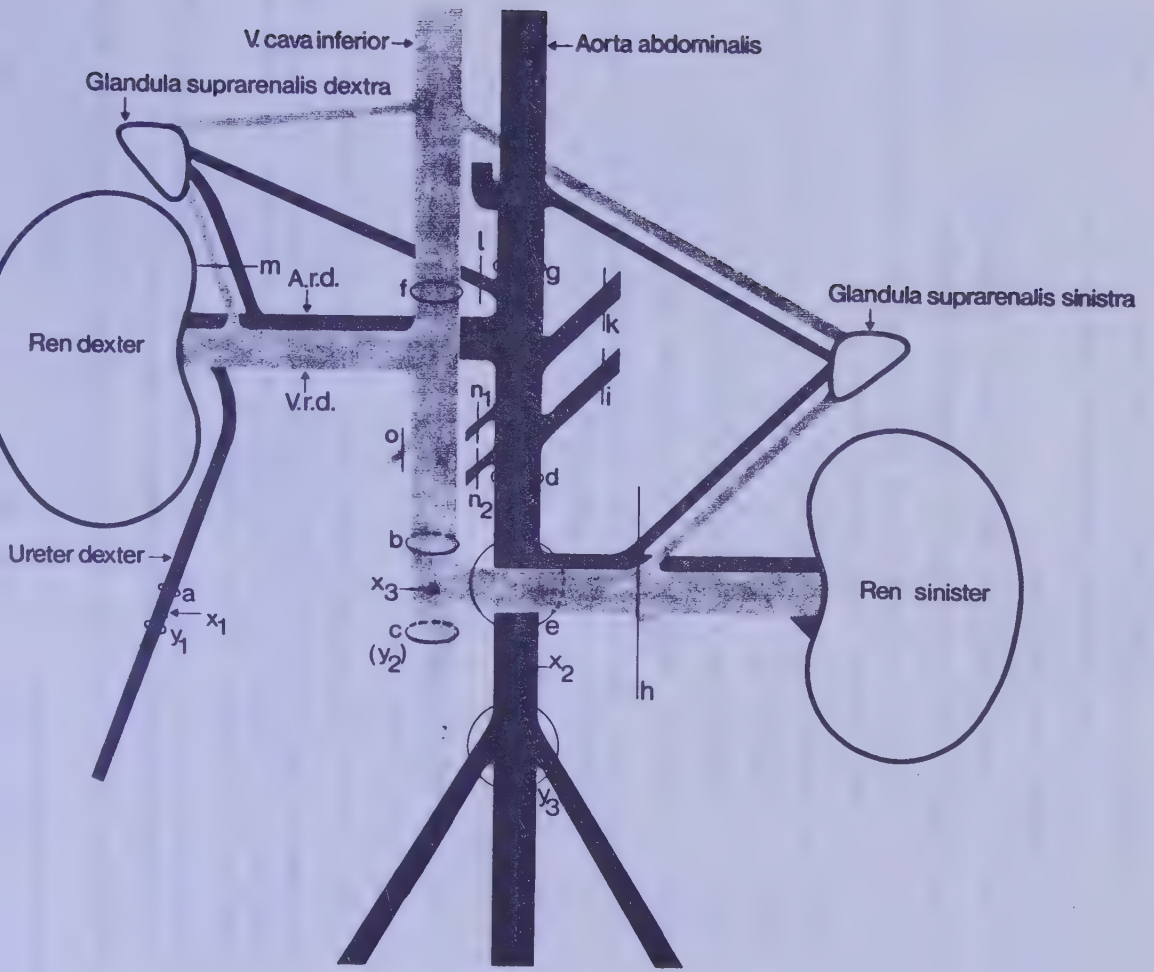

Abb. 1: Operationssitus (schematische Darstellung)

Ligaturen

für Katheter:

- a Ureter im mittleren Bereich
- b V. cava zwischen Vv. renales
- c V. cava unterhalb der V. renalis sinistra (identisch mit Zügel y_2)
- d Aorta zwischen den Aa. renales
- e um linken Nierengefäßstiel und Aorta

für Gefäßunterbindungen:

- f V. cava oberhalb der V. renalis dextra
- g Aorta unterhalb der A. renalis dextra
- h A. und V. renalis und suprarenalis sinistra inferior, 1 cm lateral des Cavawinkels
- i A. mesenterica superior
- k A. coeliaca
- l A. suprarenalis dextra superior
- m A. und V. suprarenalis dextra inferior
- n_1-n_n Aa. lumbales
- o Vene oberhalb b (unterschiedliche Lokalisation)

als Zügel:

- y_1 Ureter dexter unterhalb x_1
- y_2 identisch mit c
- y_3 Aorta, 5 mm unterhalb der V. renalis sinistra

Incisionen:

- x_1 Quer- und Längsincision im mittleren Bereich des rechten Ureters
- x_2 Incision für die Aortenkanüle, 3-5 mm unterhalb der V. renalis sinistra
- x_3 Incision für die Cavakanüle zwischen Ligatur b und c

Abkürzungen:

- A.r.d. Arteria renalis dextra
- V.r.d. Vena renalis dextra

Schema des Operationsverlaufs

1. Bauchdeckenlängsschnitt bis zum Proc. ensiformis, Querincisionen im mittleren Bereich
2. Mobilisation des Rectum, Lagerung der Därme zwischen puffergetränkter Gaze auf der linken Körperseite
3. Darstellung der oberen Zweidrittel des rechten Ureters, Lagerung des Tieres unter das Stereomikroskop, Anlegen der Ureterligatur a und des Ureterzügels y_1 (Abb. 1), Querincision des Ureters im mittleren Bereich bei x_1 und Erweiterung desselben durch Längsschnitt (Abb. 1), Einführung einer mit einem Polyäthylenschlauch verbundenen Glaskanüle bis 2 cm distal des rechten Nierenhilus, Fixierung durch Ligatur a
4. Rücklagerung des Tieres auf den Operationstisch
5. Stumpfe Präparation der Abdominalgefäße Aorta, A. renalis dextra, V. cava sowie V. renalis dextra
6. Ligaturen

   für Katheter:

   b V. cava zwischen den Vv. renales

   c V. cava unterhalb der V. renalis sinistra (identisch mit Zügel y_2)

   d Aorta zwischen den Aa. renales

   e um linken Nierengefäßstiel und Aorta

   für Gefäßunterbindungen:

   *f V. cava oberhalb der V. renalis dextra

   *g Aorta oberhalb der A. renalis dextra

   **h A. und V. renalis und suprarenalis sinistra inferior, 1 cm lateral des Cavawinkels

   **i A. mesenterica superior

   **k A. coeliaca

   **l A. suprarenalis dextra superior

   **m A. und V. suprarenalis dextra inferior

   **n_1-n_n Aa. lumbales (unterhalb g zwischen A. renalis dextra und V. renalis sinistra)

   **o Vene oberhalb b (unterschiedliche Lokalisation)

   als Zügel:

   y_1 siehe unter 3.3.3.

   y_2 identisch mit c

   y_3 Aorta, 5 mm unterhalb der V. renalis sinistra
7. Abklemmen der Aorta durch Dieffenbach-Klemme unterhalb der Ligatur d, Incision der Aorta in x_2, Einführen der Aortenkanüle, Fixierung durch die Ligaturen d und e
8. Incision der V. cava in x_3, Einführen der Venenkanüle und Fixierung durch die Ligaturen b und c
9. Mobilisation und Excision der rechten Niere und des Gefäßsystems

---

* nicht zugezogen; ** zugezogen

3.4. Perfusionsapparatur

Die Perfusionsapparatur ist ohne Berücksichtigung der Größenverhältnisse und der räumlichen Anordnung der Einzelteile schematisch in Abb. 2 dargestellt.

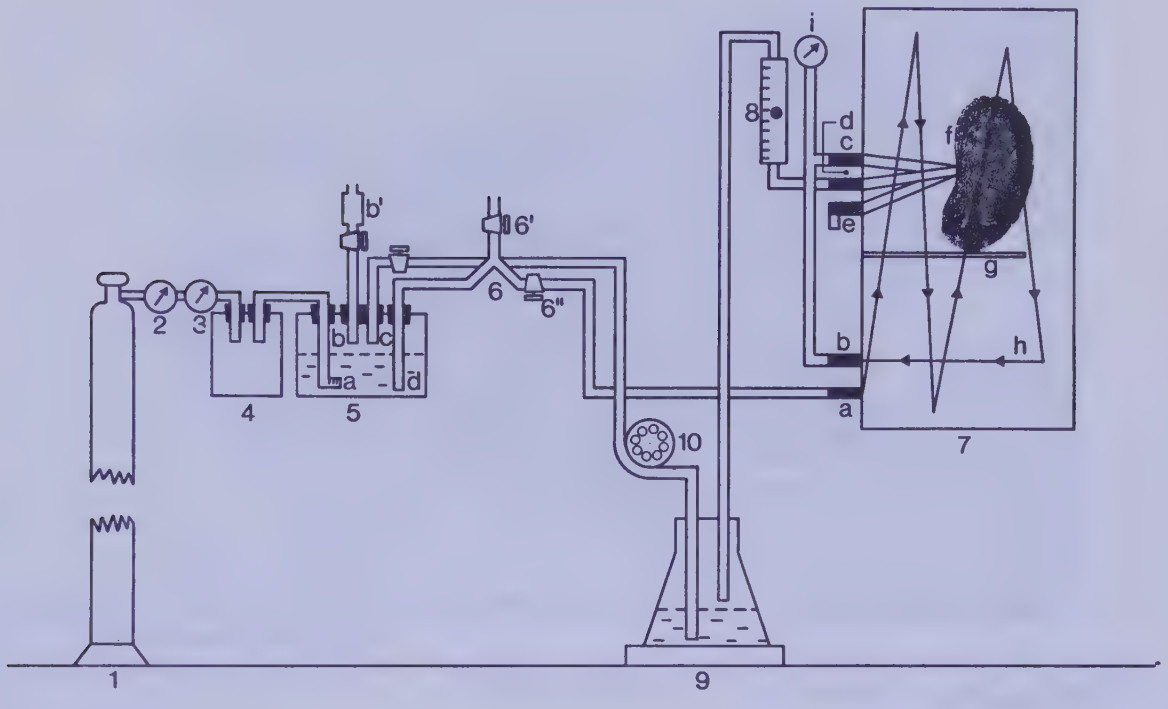

Abb. 2: Perfusionsapparatur (schematische Darstellung)

1 Gasdruckflasche (95% O_2 + 5% CO_2)

2 Manometer

3 Reduzierventil

4 Sicherheitsflasche

5 Reservoir für Perfusionsmedium
- a Fritte
- b Entlüfter mit Überdruckventil b'
- c venöser Rücklauf
- d Ausgang

6 Glasverbindung zum Thermostaten mit Entlüfter 6' und Schliffhahn 6''

7 Thermostat mit Niere
- a Anschlußstutzen: Zufuhr zum Thermostaten
- b ' Ausgang vom Thermostaten
- c ' arterielle Zufuhr zur Niere
- d ' venöser Abfluß
- e ' Harnabfluß
- f Niere
- g Nierenhalterung
- h Leitungssystem für Perfusionsmedium im Heizmantel
- i Manometer vor c

8 Flowmeter im venösen Abfluß

9 Auffanggefäß

10 Rollenpumpe im Rücklaufsystem nach 5

Die Fotografien Abb. 3a und 3b zeigen den Thermostaten in Außenansicht sowie bei herausgezogener Nierenhalterung. Der Thermostat wurde in Zusammenarbeit mit dem Techn. Betriebsbüro der Schering AG entwickelt.

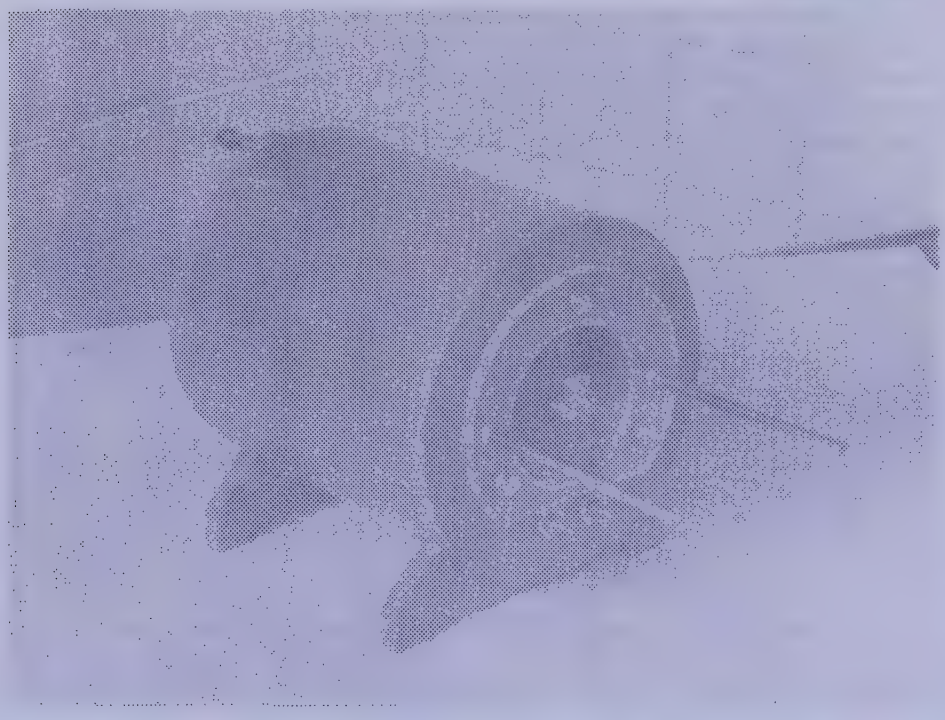

Abb. 3a: Thermostat in Außenansicht

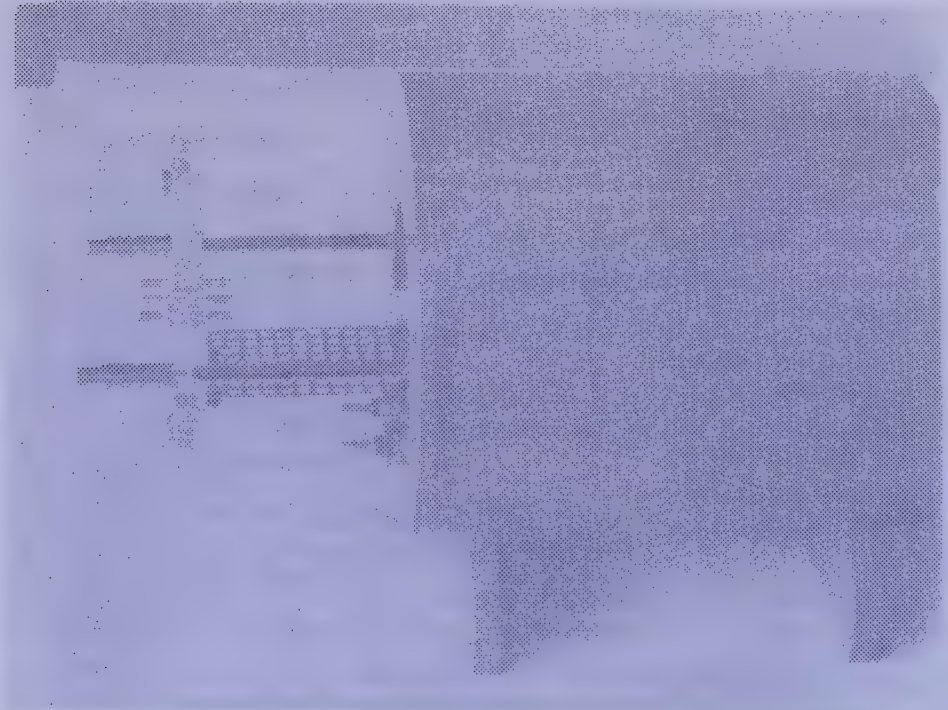

Abb. 3b: Thermostat mit herausgezogener Nierenhalterung

Detaillierte Angaben zum Thermostaten sind den technischen Zeichnungen zu entnehmen (Abb. 4a und 4b).

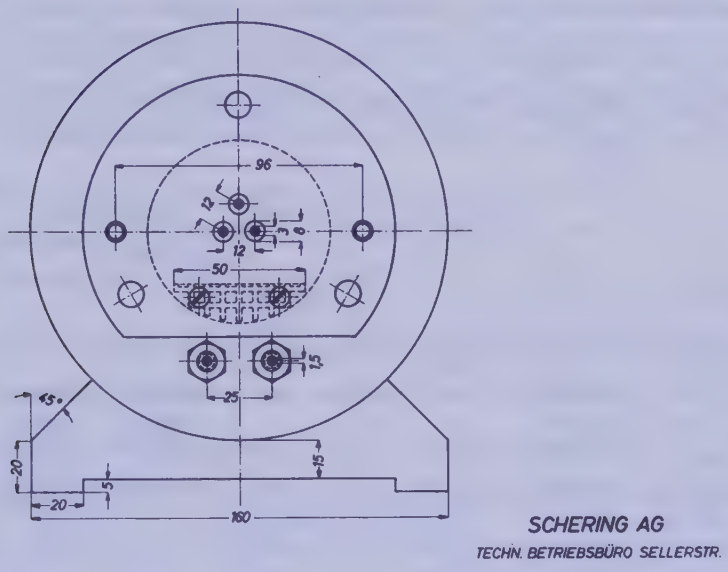

Abb. 4a: Frontalansicht des Thermostaten mit Anschlußstutzen (Maßstab 1:3)

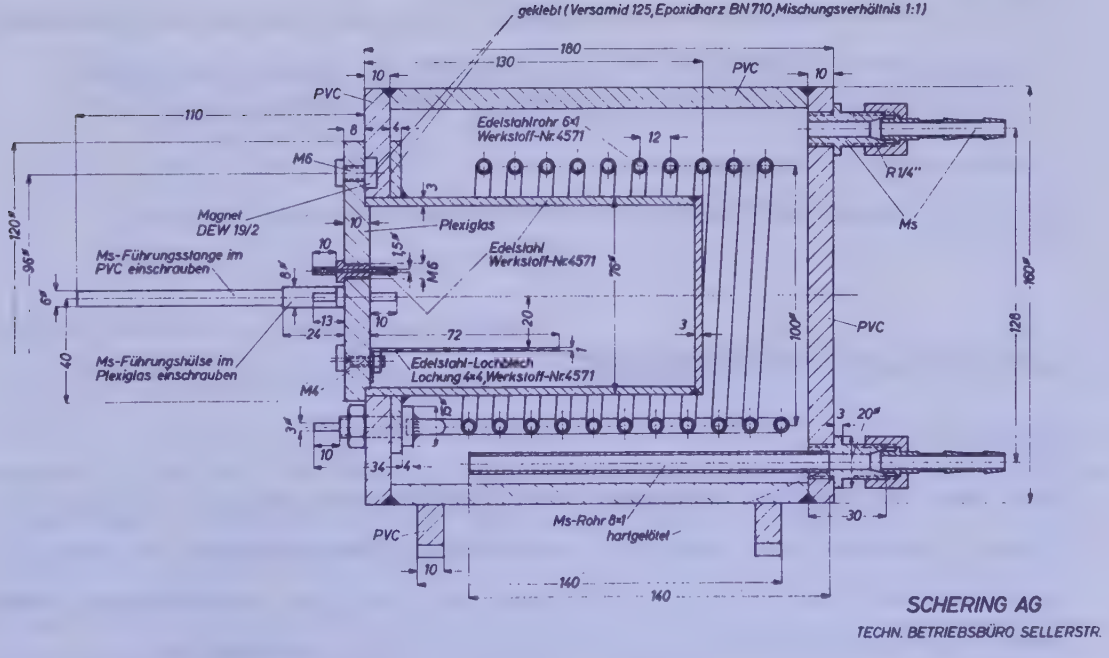

Abb. 4b: Querschnitt durch den Thermostaten (Maßstab 1:3)

3.5. Perfusionsmedium

Als Perfusionsmedium wurde in Anlehnung an WEISS [15,118,65] eine kolloidosmotisch isotone 3,5 %ige Trockenhaemaccel-Lösung verwendet. Diese Lösung wurde mit einem Sauerstoff-Kohlensäure-Gemisch (95 % O_2 + 5 % CO_2) bei Zimmertemperatur begast.
Die Zusammensetzung des Perfusionsmediums ist aus Tab. 1 ersichtlich. Für die Versuche mit Glymidin wurden diesem Medium pro Liter 100 mg [Phenyl-^{3}H]-Glymidin-Natrium mit 50 µC zugesetzt.

Substanz	MG	mMol/l Perfusionsmedium	Einwaage mg/l	Stammlösungen Einwaage mg/100ml	Stammlösungen mMol/100ml	ml Stammlösung pro Liter Medium
Trockenhaemaccel			35.000,0			
Erycinum			25,0			
NaCl, wasserfrei	58,45	135,0	7.891,3			
KCl	74,55	5,0	-	3.727,5	50,0	10,0
$CH_3CO_2Na \cdot 3\ H_2O$	136,09	5,0	-	6.804,5	50,0	10,0
$MgCl_2 \cdot 6\ H_2O$	203,33	0,5	-	1.016,7	5,0	10,0
$CaCl_2$, wasserfrei	110,99	1,0	-	1.109,9	10,0	10,0
D-Glucose, 10% H_2O	198,07	4,0	792,3			
Inosin	268,3	0,5	134,2			
Adenin	135,13	0,25	33,8		**	10,0
Guanosin	283,3	0,25	70,8			
Na-α-Ketoglutarat	166,0	0,05	8,3			
Na-Malat	187,07	0,1	18,7			
Harnstoff	60,06	6,6	400,0			
Aldosteron	360,4		0,2		***	0,2
Inulin			500,0			
$Na_2HPO_4 \cdot 2\ H_2O$	178,0	4,0	-	5.725,0	32,2	10,0
$NaH_2PO_4 \cdot 1\ H_2O$	138,0		-	1.083,0	7,9	
Rinderalbumin			1000,0			

* 40 m Phosphatstammlösung, pH 7,4
** 338,0 mg gelöst in 100,0 ml 0,1 n HCl; mit 1-2 gtt. konz. NaOH auf pH 7 eingestellt
*** 10,0 mg Aldosteron gelöst in 10 ml 96 %igem unvergälltem Äthanol; 0,2 ml ≙ 200 µg

Tab. 1: Zusammensetzung des Perfusionsmediums

3.6. Chemische Bestimmungsmethoden

3.6.1. Glucose

Die Bestimmung der Glucose im Perfusionsmedium und im Harn erfolgte enzymatisch nach der Glucoseoxydase-Methode mit der Biochemica-Test-Combination 'Blutzucker' der Fa. Boehringer, Mannheim. Zur Eiweißfällung wurde Uranylacetat verwendet.

3.6.2. Natrium, Kalium

Natrium und Kalium wurden flammenfotometrisch am Auto-Analyzer (Technicon GmbH) bestimmt. Als interner Standard für die beiden Elektrolyte diente Lithiumnitrat in einer Konzentration von 20 mval/Liter.
Die Eichkurve für NaCl wurde für Werte von 0-36 µval/ml, die für KCl von 0-24 µval/ml aufgestellt. Für die Elektrolytmessungen wurden das Perfusionsmedium und der Harn auf das zehnfache Volumen verdünnt.

3.6.3. Inulin

Die chemische Inulinbestimmung erfolgte nach einem 1956 von WAHLER [115] modifizierten Verfahren, das auf der IHLschen Resorcin-Farbreaktion zum Nachweis von Hexosen beruht.
Das Polysaccharid Inulin wird durch Hydrolyse in konzentrierter Salzsäure in Fructosemoleküle aufgespalten, die dabei in das farblose 5-Hydroxy-Methylfurfurol übergeführt werden.
Dieses gibt beim Erhitzen mit Resorcin-Salzsäure eine Rotfärbung [11]. Durch Zusatz von Eisen-III-Chlorid kann die Farbstoffbildung im Bereich geringer Inulinkonzentrationen wesentlich verbessert werden.
Für die Eiweißfällung wurde 20%ige Trichloressigsäure, für die Farbreaktion wurden folgende Reagenzien verwendet:

(a) Thioharnstoff (0,06 m) + Resorcin (0,002 m) in konzentrierter Salzsäure. (Die Lösung muß farblos sein!)
(b) Eisen-III-Chlorid (0,1 m) in konzentrierter Salzsäure.

Unmittelbar vor Gebrauch wurden beide Lösungen im Verhältnis a : b = 1000 : 1 gemischt.

Inulin wurde wie folgt bestimmt:
Zu 0,5 ml Perfusionsmedium bzw. verdünntem oder unverdünntem Harn wurden 4,0 ml Aqua bidest. und 0,5 ml 20%ige Trichloressigsäure gegeben (10fache Verdünnung des Ausgangsvolumens) und nach 20minütigem Stehen 15 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Vom dekantierten Überstand wurden 2 ml mit 4 ml der Mischung von Reagenz a und b versetzt, für 9 Minuten im Wasserbad bei 78° C gehalten und danach unter fließendem Wasser abgekühlt. Nach 15 Minuten wurde die Extinktion bei 515 nm in Küvetten mit 10 mm Lichtweg am Spektralphotometer gemessen.

Bei jeder Meßreihe wurden ein Reagenzienwert und zwei Inulinstandardwerte (20 µg und 50 µg/Ansatz) mitbestimmt. Die Inulin-Eichkurve (Abb. 5) verläuft im Bereich von 10-100 µg/Ansatz linear. Der mittlere Fehler der Methode beträgt 1 %.

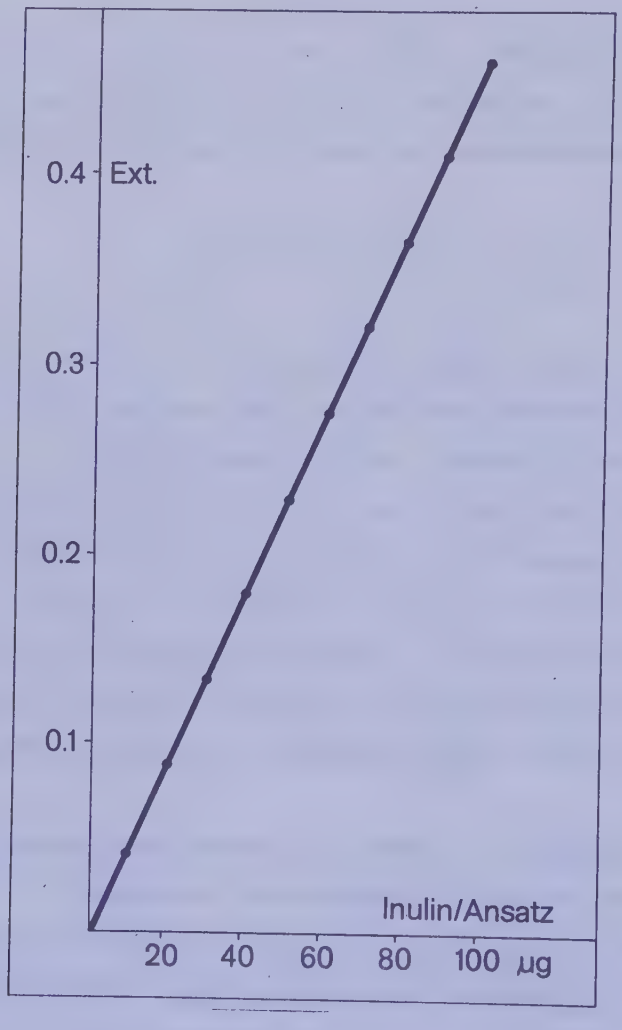

Abb. 5: Inulin-Eichkurve

3.6.4. Lactat, Pyruvat

Die chemische Bestimmung von Lactat und Pyruvat erfolgte enzymatisch mit der entsprechenden Biochemica-Test-Combination (Fa. Boehringer, Mannheim). In Abweichung von der Vorschrift wurden 2,0 ml Ausgangsvolumen eingesetzt und der Lactat- und Pyruvatgehalt aus derselben Probe in Anlehnung an BERGMEYER [10] nach folgender Formel berechnet:

$$\mu g/ml = \frac{\Delta E \cdot 10^6 \cdot V \cdot MG}{\varepsilon \cdot d \cdot v}$$

µg% Pyruvat = ΔE · 7,467 (bei 366 nm)

µg% Lactat = ΔE · 171,75 (bei 366 nm)

ΔE = die gemessene Extinktionsänderung

V = das Volumen der Lösung in der Küvette in ml

v = das Volumen der eingesetzten Probe in ml

ε = der Extinktionskoeffizient (dekad. Logarithmus) der lichtabsorbierenden Substanz; bei 366 nm = 3,3 [$cm^2/\mu Mol$]

d = durchstrahlte Schichtdicke der Küvette in cm

MG = Molgewicht der zu bestimmenden Substanz

3.7. Bestimmung biochemischer Parameter

3.7.1. Sauerstoffaufnahme des Nierengewebes in vitro

Mehrere Versuche galten der Frage, ob unter Perfusionsbedingungen die Fähigkeit des Nierengewebes zur Sauerstoffaufnahme in vitro verändert wird. Zum Vergleich wurde die Sauerstoffaufnahme in vitro an jeweils rechten Nieren gemessen, die unmittelbar nach Töten der Tiere entnommen wurden. Die Nieren wurden dekapsuliert, halbiert, die Nierenbecken excidiert und von Hand dünne Rindenschnitte angefertigt. Die Sauerstoffaufnahme wurde an Nierenrindenschnitten gemessen.

In den Kontrollversuchen wurden die Nieren 1,5 bis 6 Stunden in glucosehaltigem Krebs-Ringer-Phosphat(KRPh) - Puffer mit 2,5 mg% Erycinum(R) bei 37° C unter Luft vorinkubiert. Die Sauerstoffaufnahme der perfundierten Niere wurde unmittelbar nach Beendigung einer 60 Minuten dauernden Perfusion bestimmt.

Zur Bestimmung der Sauerstoffaufnahme wurden Nierenschnitte (20 mg Feuchtgewicht) in der Meßzelle in 3 ml KRPh-Puffer bei 37° C über 5 Minuten inkubiert. Der Puffer enthielt 100 mg% Glucose und 2,5 mg% Erycinum(R). Die Sauerstoffaufnahme des Nierengewebes wurde über den Sauerstoffschwund im Inkubationsmedium der Meßzelle mit dem Biological Oxygen Monitor gemessen.

Die Sauerstoffmessung basiert auf folgendem Prinzip:
Sauerstoff diffundiert durch eine Teflon(R)-Membran an die Oberfläche der Kathode und wird dort unter Wasserbildung reduziert.

Dadurch wird die Anode depolarisiert, und der so entstehende Stromfluß, der proportional dem Sauerstoffverbrauch an der Kathodenoberfläche ist, wird mit einem automatäschen Schreiber registriert. Die Ausgangskonzentration an Sauerstoff im Inkubationsmedium der Meßzelle wird 100% gesetzt. Der prozentuale Sauerstoffschwund kann in seiner Abhängigkeit von der Zeit direkt aus der Kurve abgelesen werden.

Der Puffer wurde (in Anlehnung an [114]) wie folgt zubereitet:

100 ml mit 0,94% NaCl
4 ml mit 1,15% KCl
3 ml mit 0,61% $CaCl_2$
20 ml 0,1 mol. Na_2HPO_4 (am pH-Meter auf pH 7,0 eingestellt)
100 mg% Glucose

3.7.2. Lactat/Pyruvat-Quotient von Nierengewebe in vitro

Die Untersuchungen erfolgten

(a) an rechten Nieren Nembutal$^{(R)}$-narkotisierter Tiere unmittelbar nach Entbluten

(b) an linken Nieren unmittelbar vor Anschluß der rechten Nieren an das Perfusionssystem, wobei 10-15 Sekunden lang die Blutzufuhr durch Unterbindung des linken Nierengefäßstieles unterbrochen werden mußte

(c) an rechten Nieren unmittelbar nach 60 Minuten dauernder Perfusion

Unmittelbar nach Entnahme bzw. Perfusionsende wurden die Nieren dekapsuliert und (in Anlehnung an [42]) wie folgt aufbereitet: Nach Gefrierstop wurde ca. 1 g Nierengewebe unter Übergießen mit flüssigem Stickstoff feingemörsert und in ein vorgewogenes Homogenisiergefäß mit 5,0 ml kalter, 6%iger Perchlorsäure gegeben, gewogen, 30 Sekunden unter Kühlung homogenisiert und 4 Minuten bei 2800 U/min zentrifugiert. Nach Dekantieren wurde der Rückstand mit 3 ml 3%iger Perchlorsäure nachextrahiert. Die vereinigten Überstände wurden unter Eiskühlung auf einem Magnetrührer mit Kaliumcarbonat bis zum beginnenden Umschlag des Indikators Methylorange (pH 3,5) titriert, zentrifugiert und dekantiert. Die Rückstände wurden mit Aqua bidest. ausgewaschen und die vereinigten Überstände auf ein definiertes Volumen (8,0 ml) aufgefüllt. Anschließend wurden Lactat und Pyruvat enzymatisch bestimmt (s. unter 3.6.4.).

3.7.3. Gluconeogenese in vitro mit Pyruvat als Substrat

Diese Versuche wurden mit Nieren nicht narkotisierter Tiere, die unmittelbar nach Entbluten excidiert wurden, sowie an Nieren, die 60 Minuten perfundiert worden waren, durchgeführt. Unmittelbar nach der Excision bzw. Perfusionsbeendigung wurden Nierenrindenschnitte von Hand angefertigt.

Zur Bestimmung der Gluconeogenese in den Nierenschnitten wurde die Glucoseneubildung aus Pyruvat gemessen. Zum Nachweis der Gluconeogenese aus Pyruvat wurden die Nierenschnitte in Parallelversuchen mit Pyruvat und in Gegenwart des Gluconeogenesehemmers MICA (5-Methoxy-Indol-2-Carbonsäure) inkubiert [6]. Die Inkubation von jeweils 200 mg Feuchtgewebe erfolgte in 2 ml Krebs-Ringer-Bicarbonat(KRB)-Puffer mit Zusatz von 10^{-2} m Pyruvat bzw. 10^{-2} m Pyruvat + 10^{-3} m MICA im Schüttelthermostaten bei 38°C. Die Inkubation dauerte 120 Minuten. Vor der Inkubation wurde das Medium mit einem Sauerstoff-Kohlensäure-Gemisch (95 % O_2 + 5 % CO_2) begast.

Zur Erfassung der nicht aus exogenem Pyruvat gebildeten Glucose wurden parallel in Kontrollversuchen Nierenschnitte in KRB-Puffer ohne Zusatz von Pyruvat inkubiert.

Zur enzymatischen Bestimmung der Glucose im Inkubationsmedium wurden Dreifachmessungen durchgeführt.

3.8. Bestimmung von Glymidin

Für die Perfusion mit dem oralen Antidiabeticum Glymidin wurden dem Perfusionsmedium 10 mg% Glymidin-Natrium und 50 µC [Phenyl-^{3}H]-Glymidin-Natrium/Liter zugesetzt.

Die Radioaktivitätsmessung erfolgte im Tri-Carb-Szintillations-Spektrometer.

Die Urinsammelfraktionen wurden mit Aqua bidest. auf 1 ml gebracht. Davon wurden jeweils 0,2 ml zur Radioaktivitätsmessung eingesetzt. Die Radioaktivität im Perfusionsmedium wurde in jeweils 0,2 ml bestimmt.

Radioaktivitätsmessung:

0,2 ml verdünnter Harn bzw. Perfusionsmedium

2,0 ml Methylalkohol

18,0 ml Szintillatorlösung
(400 mg Naphthalin, 40 g PPO [Diphenyloxazol], 1 g POPOP [2,2-p-Phenylen-bis-{5-phenyl-oxazol}] mit Dioxan ad 4 Liter)

3.9. Bestimmung physiologischer Größen

3.9.1. Arteriovenöse Durchflußrate

Die arteriovenöse Durchflußrate oder Perfusionsstromstärke, die der Nierendurchblutung in vivo entspricht, wurde mittels eines Durchflußmessers im venösen Ausfluß bestimmt. Zur Eichung des Flowmeters wurden unterschiedliche, druckproportionale Durchflußvolumina im Maßzylinder unter Stoppuhrkontrolle aufgefangen und registriert (Abb. 6). In allen Versuchen wurde die Durchflußrate auf ml/min/g Nierenfeuchtgewicht berechnet.

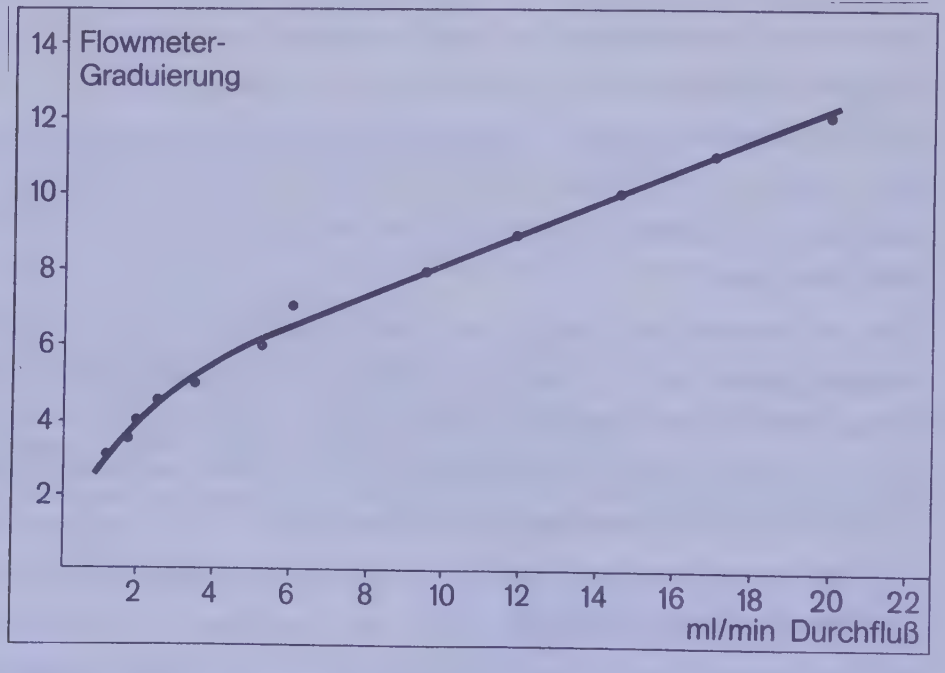

Abb. 6: Eichkurve des Durchflußmessers

3.9.2. Harnvolumen

Der von der perfundierten Niere produzierte Harn wurde unter Stoppuhrkontrolle in graduierten Zentrifugenröhrchen aufgefangen. Die Harnvolumina wurden auf ml/min/g Nierenfeuchtgewicht berechnet.

3.9.3. Inulin-Clearance

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) wurde durch die Clearance von Inulin nach folgender bekannten Formel bestimmt:

$$C_{Inulin} = \frac{U \cdot V}{P}$$

U = Inulinkonzentration im Urin in µg/ml
V = Harnvolumen in ml/min
P = Inulinkonzentration im Medium in µg/ml

Die GFR wurde auf ml/min/g Nierenfeuchtgewicht berechnet.
Die chemische Inulinbestimmung erfolgte colorimetrisch in 0,2 ml Harn bzw. 0,2 ml Perfusionsmedium nach WAHLER [115] (siehe unter 3.6.3.).

3.9.4. Resorption von Natrium, Kalium, Wasser und Glucose

Anhand der Inulin-Clearance wurde die glomerulär filtrierte Menge an Natrium, Kalium, Wasser und Glucose pro Sammelperiode berechnet. Die Differenz zwischen filtrierter und mit dem Harn pro Sammelperiode ausgeschiedener Menge ergab die pro Sammelperiode tubulär resorbierte Menge. Die glomerulär filtrierte Menge wurde 100 gesetzt und die Resorption für Natrium, Kalium, Wasser und Glucose in Prozenten errechnet.

4. VERSUCHSABLAUF

In allen Versuchen wurden männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht von 230-270 g verwendet. Die Tiere erhielten bis 15 Stunden vor dem Versuchsbeginn Latz-Standardkost und bis zum Narkosebeginn Leitungswasser ad libitum. Bei den Versuchen zur Bestimmung der Gluconeogenese wurde den Tieren 24-30 Stunden vor Versuchsbeginn die Nahrung entzogen.

4.1. Bereitung des Perfusionsmediums

Als Perfusionsmedium diente (in Anlehnung an WEISS [15,118,65]) eine kolloidosmotisch isotone, 3,5%ige Trockenhaemaccel-Lösung. Das Perfusionsmedium (Zusammensetzung siehe Tab. 1) wurde für jeden Versuch frisch bereitet. Für Kalium-, Magnesium- und Calciumchlorid, Natriumacetat und den Phosphatpuffer, ebenso für Adenin und Aldosteron, wurden Stammlösungen in Aqua bidest. angesetzt und im Kühlschrank bei +4° C aufbewahrt. Adenin wurde in 0,1 n Salzsäure, Aldosteron in 96%igem Äthanol gelöst, Inulin mit einigen Tropfen Aqua bidest. unter Erwärmen auf ca. 80° C angelöst. Die für einen Liter Perfusionsmedium erforderliche Menge Trockenhaemaccel wurde zur Lösung in Aqua bidest. ca. eine Stunde gerührt. Zu dieser Lösung wurden die Festsubstanzen, anschließend die Stammlösungen in der aus Tab. 1 ersichtlichen Reihenfolge zugegeben. Nach Filtration wurde das Medium auf pH 7,4 eingestellt. Das Perfusionsmedium wurde danach im Reservoir (5; Abb. 2) bei Raumtemperatur 1-1,5 Stunden mit einem Sauerstoff-Kohlensäure-Gemisch (95% O_2 + 5% CO_2) begast.

4.2. Aufbau und Bedienung der Perfusionsapparatur

Die Perfusionsapparatur ist schematisch in Abb. 2 dargestellt. Zum Aufbau des Perfusionsdruckes diente eine Gasdruckflasche (1) mit 95% O_2 + 5% CO_2. Durch das Reduzierventil (3) konnte der Druck um jeweils 5 mm Hg variiert werden. Über eine Sicherheitsflasche (4) wurde das Gasgemisch durch die Fritte (5a) in das Mediumreservoir (5) geleitet. Dadurch wurde das Medium auch während der Perfusion begast und gleichzeitig der erforderliche Perfusionsdruck im Reservoir aufgebaut. Mit Hilfe des Entlüfters (6') wurden das Verbindungsstück (6) sowie das Rohrsystem im

Thermostaten (7) bis zum Ausgangsstutzen (7b) luftblasenfrei mit Perfusionsmedium gefüllt.
Zur Perfusion wurde das im Thermostaten auf 38° C erwärmte Medium über den Ansatzstutzen (7c) und die Aortenkanüle der Niere zugeführt.
Mit Hilfe des Reduzierventils (3), des Überdruckventils (5b') und des Quecksilbermanometers (7i) wurde der Perfusionsdruck auf 140 mm Hg eingestellt.
Das über die V. renalis abfließende Perfusionsmedium wurde über den Ausgangsstutzen (7d) und das Flowmeter (8) in das venöse Auffanggefäß (9) geleitet. Für Perfusionsversuche nach dem Recycling-Verfahren kann das Medium aus dem Auffanggefäß (9) mit Hilfe der Rollenpumpe (10) in das Reservoir (5) zurückgeführt werden.
Der in vitro produzierte Harn wurde über den Stutzen (7e) abgeleitet.

4.3. Operation

4.3.1. Instrumente und Materialien

1 Knopfschere für Haut und Muskulatur

1 kleine Gefäßschere mit spitzen Branchen

2 feine, stumpfe, gebogene Präparierpinzetten

2 Uhrmacherpinzetten (Dumont, Nr. 4) für die Präparation unter dem Mikroskop

2 gerade und 2 gebogene kleine Dieffenbach-Klemmen

3 bis 4 kleine Kocher-Klemmen

Injektionsspritzen und -kanülen

Operationsseide Nr. 5 (000) der Fa. B.Braun, Melsungen, für Ligaturen

Nembutal(R)

Heparin-Injektionslösung (100 mg Heparin in 100 ml 0,9%iger NaCl-Lösung; 1 ml = 154 USE Heparin)

Schälchen mit physiologischer Kochsalzlösung oder Perfusionsmedium zur Organbefeuchtung intra operationem

Gazelagen und -tupfer

1 Aortenkanüle aus Glas (Abb. 7a)

1 Katheter für die V. cava aus Glas oder starrem Polyäthylen (Abb. 7b)

1 Ureterkanüle (über dem Bunsenbrenner ausgezogenes Hämatokritröhrchen) mit Katheter (Abb. 7c)

kurze, elastische Schlauchverbindungsstücke zwischen Gefäßkathetern bzw. -kanülen und Ansatzstutzen am Thermostaten

Die Reinigung der Instrumente und Kanülen sowie der Katheter und Schlauchverbindungsstücke erfolgte in Hämosol(R)-Lösung. Für die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Perfusionsversuche waren sterile Operationsbedingungen nicht erforderlich.

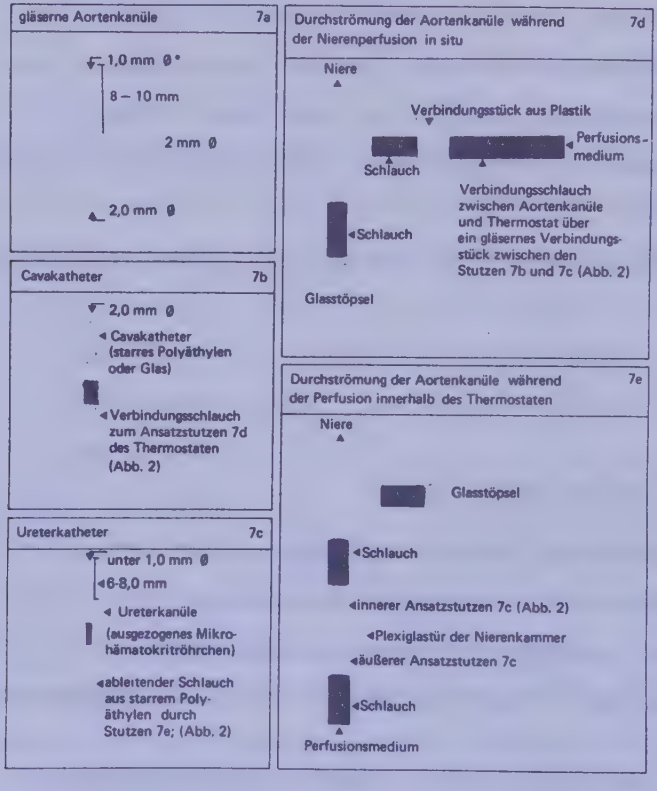

Abb. 7: Aortenkanüle, Cavakatheter und Ureterkatheter (Maßstab: ca. 1:2)
Schlauchverbindungen: elastisches Polyäthylen
*Alle Durchmesser (Ø) sind Innendurchmesser

4.3.2. Durchführung

Die Versuchstiere wurden durch intraperitoneale Injektion von 30 mg Nembutal(R) pro kg Körpergewicht narkotisiert. Zwischen Injektion und Operationsbeginn vergingen durchschnittlich 5 Minuten. Die Operationstechnik wurde weitgehend nach der von WEISS und Mitarbeitern [117] beschriebenen Methode durchgeführt (siehe Schema des Operationsverlaufs und Abb. 1).
Die narkotisierten Tiere wurden auf dem Operationstisch für

Kleintiere in Rückenlage fixiert und das Abdomen mittels Knopfschere durch Längsschnitt der Bauchdecke von der Symphyse bis zum Proc. ensiformis eröffnet. Das Operationsfeld wurde durch je eine Querincision der Bauchdecke im mittleren Bereich bei Schonung der in ihr verlaufenden Gefäße hinreichend erweitert. Der Dickdarm wurde durch stumpfe Durchtrennung des Mesorectum mobilisiert, das Darmkonvolut zwischen körperwarmer, puffergetränkter Gaze auf die linke Seite des Tieres verlagert und das Tier nach Darstellung der oberen Zweidrittel des rechten Harnleiters unter das Stereomikroskop gelagert.
Die im folgenden benutzten Buchstaben beziehen sich auf Abb. 1 und das Schema des Operationsverlaufs.
Das Freipräparieren des Ureters erfolgte mit Hilfe spitzer Federpinzetten (Dumont) unter dem Stereomikroskop. Im oberen Drittel des Ureters wurde die Ligatur a für die Fixierung der Harnleiterkanüle und im mittleren Drittel der Zügel y_1 gelegt. Nach leichtem Anspannen des Ureters mit Hilfe des Zügels y_1 erfolgte unterhalb der Ligatur a in x_1 eine Querincision, die durch Längsschnitt erweitert wurde. Die Eröffnung des Ureterlumens war am rhythmischen Ausströmen von Harn erkennbar. Die Harnleiterkanüle wurde bis ca. 1,5 cm unterhalb des Nierenhilus eingeführt und durch Ligatur a fixiert, anschließend der Harnleiter unterhalb der Incisionsstelle durchtrennt. Die weitere operative Vorbereitung erfolgte wieder auf dem Operationstisch.
Zur Freilegung der Niere wurde der Bindegewebsstrang zwischen oberem Nierenpol und Leber durchtrennt und die Leber mit feuchter Gaze cranial verlagert. Die unteren Gefäße der rechten Nebenniere, die hinter dem oberen Nierenpol verlaufen, wurden unterbunden (Ligatur m). Danach wurden die rechte Niere, die Aorta, A. renalis dextra, V. cava caudalis und V. renalis dextra vom umgebenden Fett- und Bindegewebe freipräpariert. Die gemeinsame Gefäßscheide um Aorta und V. cava wurde unmittelbar unterhalb der Einmündungsstelle der V. renalis sinistra stumpf getrennt. Eine Trennung weiter distal führte sehr leicht zu Verletzungen der V. cava!
Im weiteren Verlauf wurden folgende Ligaturen und Zügel gelegt, wobei allerdings - wenn nicht anders vermerkt - die Gefäße noch nicht unterbunden wurden:

Ligatur b für die Fixierung des Cava-Katheters oberhalb der Einmündung der linken Nierenvene in die V. cava

Ligatur c um die V. cava dicht unterhalb der linken Nierenvene. Sie diente zunächst als Zügel (y_2), später zur Fixierung des Cava-Katheters

Ligatur d um die Aorta zwischen den Vv. renales zur Fixierung der Spitze der Aortenkanüle

Ligatur e um den linken Nierengefäßstiel und die Aorta für die Fixierung der Aortenkanüle

Ligatur f um die V. cava dicht unterhalb der Leber für die Unterbindung der Hohlvene

Ligatur g für die Aortenunterbindung dicht oberhalb der rechten Nierenarterie

Folgende Ligaturen wurden sofort zugezogen:

Ligatur h um den linken Nierengefäßstiel ca. 1 cm lateral des Cavawinkels

Ligatur i um die A. mesenterica superior

Ligatur k um die A. coeliaca

Ligatur l um die A. und V. suprarenalis superior dextra
Die Ligatur ist nur erforderlich, wenn die Gefäße aus der A. renalis abgehen bzw. in die V. renalis einmünden.

Ligaturen n_1-n_n um die Aa. lumbales (zwischen A. renalis dextra und V. renalis sinistra unterhalb der Ligatur g)

Ligatur o um eine gelegentlich dicht unterhalb der Einmündung der rechten Nierenvene in die V. cava auftretende Vene; oft wird diese jedoch durch Ligatur b miterfaßt.

Da die rechte Niere auch nach plötzlicher Ausschaltung eines Teils des Kreislaufs unverändert Harn produzierte, kann geschlossen werden, daß durch diese Operation keine wesentliche Beeinträchtigung des Nierenkreislaufs erfolgt war.

Nach Legen bzw. Zuziehen der Ligaturen und Zügel wurde in die V. dorsalis penis, die sich nach Zurückstreifen des Präputium mühelos punktieren läßt, 1,0 ml (= 154 USE) Heparinlösung mit einer Kanüle Nr. 20 injiziert. Die Heparinwirkung trat nach wenigen Minuten ein.

Der Anschluß der Niere an das Perfusionssystem erforderte besondere Sorgfalt, um eine anoxämische Phase zu vermeiden. Die Niere wurde zu diesem Zweck bereits in situ über einen Seitenschluß im Perfusionssystem mit Perfusionsmedium durchströmt und ohne Unterbrechung der Durchströmung zur Perfusion in den Thermostaten (7 in Abb. 2) überführt.

Zunächst wurde die Aorta unterhalb der Ligatur d (Abb. 1) mit einer Dieffenbach-Klemme abgeklemmt, dann nach Querincision in x_2 unter Benutzung des Zügels y_3 die Aortenkanüle nach Entfernen der Dieffenbach-Klemme bis dicht unterhalb des Abgangs der A. renalis dextra vorgeschoben. Die Aortenkanüle wurde durch die Ligaturen e und d fixiert. In dieser Operationsphase wurde die rechte Niere mit einem Gemisch aus Blut und Perfusionsmedium versorgt, nach Unterbinden der Aorta durch die Ligatur g ausschließlich durch Perfusionsmedium.

Nach Incision der V. cava in x_3 wurde der Cava-Katheter bis dicht unterhalb der Einmündung der Nierenvene geschoben und mit der Schrägseite der Katheterspitze nierenwärts gerichtet, um einen ungehinderten venösen Abfluß zu gewährleisten. Der Cava-Katheter wurde durch die Ligaturen b und c fixiert und die V. cava durch die Ligatur f unterbunden.

Nun konnte das Nierenpräparat excidiert und an den Thermostaten (7 in Abb. 2) angeschlossen werden.

Wie bereits erwähnt, war es notwendig, eine anoxämische Phase für die Niere zu vermeiden. Dies gelang durch die Benutzung einer speziell konstruierten Aortenkanüle, die in Abb. 7a schematisch dargestellt ist. Der Gebrauch der Aortenkanüle für die Perfusion in situ ist aus der schematischen Darstellung Abb. 7d ersichtlich. Dabei erfolgte die Zufuhr des Perfusionsmediums über den rechten Seitenarm der Kanüle bei Verschluß des unteren Arms. Zum Anschluß des Nierenpräparates an den Thermostaten wurde der untere Seitenarm der Aortenkanüle über eine Schlauchverbindung mit dem inneren Teil des Stutzen c (7 in Abb. 2) verbunden. Die Perfusion erfolgte dann durch das aus dem Thermostaten strömende Perfusionsmedium (7b in Abb. 2). Der seitliche Arm der Aortenkanüle wurde mit einem Glasstöpsel verschlossen (Abb. 7e).

Für die Perfusion in situ mit einem Perfusionsdruck von 140 mm Hg wurde das Medium über einen - in Abb. 2 nicht dargestellten - Seitenschluß vor c entnommen. Das excidierte Nierenpräparat wurde im Thermostaten auf der mit feuchter Gaze bedeckten Nierenhalterung horizontal gelagert. Der Venenkatheter wurde an den Stutzen d, der Ureterkatheter an den Stutzen e angeschlossen.

Besondere Gefahrenquellen für das Gelingen der Perfusion sind: Zerrung des Ureters und Behinderung des venösen Abflusses.

4.4. Perfusionsablauf

Zwischen Operationsbeginn und Perfusion im Thermostaten vergingen im Durchschnitt 30 bis 40 Minuten. Während der gesamten Perfusionsdauer wurde der Perfusionsdruck auf 130-140 mm Hg eingestellt. Dieser Druck lag zwar höher als der Druck in der A. renalis in vivo, war aber erforderlich, um die Vasokonstriktion der isolierten Niere zu verhindern. Deshalb auch war manchmal gegen Versuchsende eine Erhöhung des Drucks auf 160-170 mm Hg erforderlich.

Bei den meisten Perfusionsversuchen wurde das Perfusionsmedium nach einmaliger Durchströmung der Niere verworfen. In einigen Stichversuchen erfolgte die Nierenperfusion im Recycling-Verfahren, um die arteriovenöse Durchflußrate, das Harnvolumen, die Inulin-Clearance und die Resorptionsfähigkeit der perfundierten Niere für Natrium, Kalium, Wasser und Glucose unter beiden Bedingungen vergleichen zu können. Da keine wesentlichen Unterschiede in den genannten Meßgrößen festzustellen waren, wurden die im Recycling-Verfahren durchgeführten Versuche im Ergebnisteil nicht besprochen.

Vor dem Beginn der Perfusion wurden die Ausgangskonzentrationen für Glucose, Natrium, Kalium und Inulin im Perfusionsmedium bestimmt. Zur Glucosebestimmung wurde das Medium sofort in Uranylacetat enteiweißt. Für die Elektrolytbestimmung wurden Mediumproben in elektrolytfreien Plastikgefäßen (Eppendorf-Mikroreaktionsgefäße) bis zur Messung eingefroren. Die Mediumproben für die Inulinbestimmungen wurden in Trichloressigsäure enteiweißt. Es wurden stets Doppelbestimmungen durchgeführt.

Der Perfusionsdruck wurde während der gesamten Versuchsdauer überwacht. Die arteriovenöse Durchflußrate wurde alle 10 oder 15 Minuten am Flowmeter abgelesen und registriert. Der Harn wurde jeweils alle 10 oder 15 Minuten gesammelt und das Volumen registriert. In allen Harnproben wurden Glucose, Kalium, Natrium und Inulin bestimmt, in den Versuchen mit [^{3}H]-Glymidin auch noch die Radioaktivität.

Im Laufe der Perfusion stellte sich eine mäßige ödematöse Schwellung der Niere ein. Von der Nierenoberfläche wurde in geringer, mit der Versuchsdauer zunehmender Menge Perfusionsmedium abgegeben, die insgesamt aber nur wenige Milliliter betrug.

Unmittelbar nach Beendigung des Versuchs wurde die Niere dekapsuliert, durch Vertikalschnitt das Nierenbecken eröffnet, das Gewebe mit Filtrierpapier vorsichtig abgetupft und das Feuchtgewicht bestimmt.

5. ERGEBNISSE

5.1. Physiologie

Zur Funktionsdiagnostik des in dieser Arbeit verwendeten Nierenpräparates wurden folgende Größen bestimmt:

Arteriovenöse Durchflußrate	(5.1.1.)
Inulin-Clearance	(5.1.2.)
Harnvolumen	(5.1.3.)
Natrium- und Kalium-Resorption	(5.1.4.)
Wasser-Resorption	(5.1.5.)
Glucose-Resorption	(5.1.6.)

5.1.1. Arteriovenöse Durchflußrate

Tab. 2 und Abb. 8 zeigen die arteriovenöse Durchflußrate in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer bei einem Perfusionsdruck von 130-140 mm Hg. Die Durchflußrate fällt in ca. 1,5 Stunden von initial 9-10 ml/min/g auf ca. 2 ml/min/g ab.

Versuch	Zeit nach Versuchsbeginn in Minuten															
	0-10	0-15	10-20	15-30	20-30	30-40	30-45	40-50	45-60	50-60	60-70	70-80	80-90	90-100	100-110	110-120
1	7,0		7,0		7,0			3,5		2,5	2,0	1,8	1,5	1,0	1,0	1,0
2	8,3		8,3		8,3	9,5		9,5		8,3	8,3	8,3	8,3	8,3	8,3	8,3
3	14,3		13,0		13,0	11,8		9,5		7,0	6,0	3,2	2,0	1,5	1,2	0,7
4	13,0		13,0		13,0											
5	7,0		8,3		8,3			8,3								
6	8,3		8,3		8,3											
7	10,5	10,0	7,0													
8	14,5		14,5		13,0	12,0										
9	13,0	12,0														
10	10,5	10,5	9,0	8,3	7,5	6,0	7,0		5,0							
11	7,0	7,0	7,0	7,0	6,0	6,0	6,0		6,0							
12			7,0	12,0	10,5	9,0	9,0		9,0							
13	8,5	8,5	9,0	9,5	9,0	9,0	9,5		8,0							
14	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0		10,0	9,0	8,0	7,0	6,0	5,0	1,0	1,0	1,0	1,0
15	9,5		9,5		9,5			7,0			3,0	2,0	1,0	1,0	1,0	1,0
16	9,5		9,5		9,5			7,0			3,0	2,0	1,0	1,0	1,0	1,0
17		7,0		6,5			3,0		1,0		1,0		1,0			
18	9,5		9,0		8,3	8,3										
19	7,0	7,0		9,2			9,2		9,2							
20				6,5			6,5									
n	17	8	16	8	15	8	8	7	7	4	7	6	7	6	6	6
m_1 (ml/min)	9,91	9,13	9,5	9,2		8,95	7,53	7,68	6,45		4,19	3,72	2,26	2,3	2,08	2,16
m_2 (ml/min/g)	9,51	9,09	8,85	8,93		8,71	7,32	7,0	5,95		3,8	3,31	2,19	2,18	2,13	2,07
Sm_2	±2,45	±1,81	±2,9	±1,96		±1,99	±1,81	±2,08	±2,59		±2,36	±2,57				

Tab. 2: Arteriovenöse Durchflußrate in ml/min (m_1) und ml/min/g Feuchtgewicht (m_2) in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer

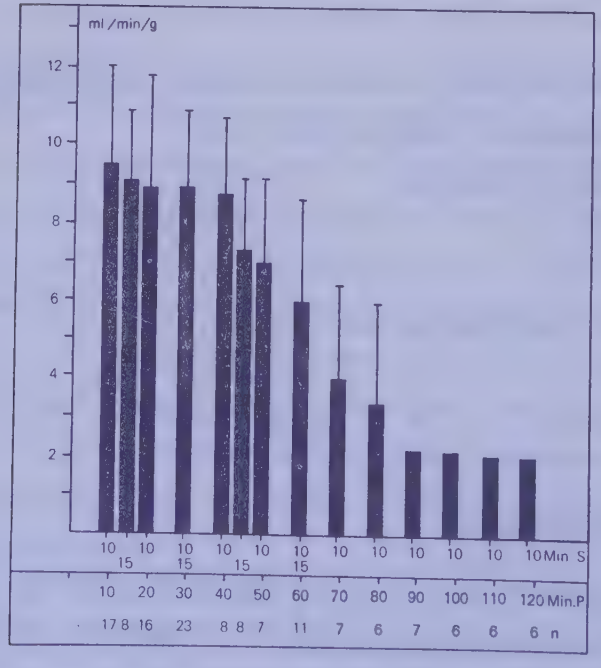

Abb. 8: Arteriovenöse Durchflußrate in ml/min/g Feuchtgewicht in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer (P)
S: Sammelperiode; n: Anzahl der Versuche

5.1.2. Inulin-Clearance

Die Inulin-Clearance zeigt nach etwa 50 Minuten ein Maximum von ca. 0,4 ml/min/g und nimmt nach weiteren 60 Minuten etwa bis zum Ausgangswert ab (Tab. 3 und Abb. 9).

Versuch	Zeit nach Versuchsbeginn in Minuten															
	0–10	0–15	10–20	15–30	20–30	30–40	30–45	40–50	45–60	50–60	60–70	70–80	80–90	90–100	100–110	110–120
1	0,04		0,10		0,14	0,19		0,19		0,18	0,17	0,14	0,13	0,11	0,09	
2			0,08		0,11	0,14		0,13		0,13	0,13	0,16	0,16	0,17	0,18	0,21
3	0,13		0,37		0,45	0,55		0,64		0,68	0,70	0,60	0,35	0,25	0,32	
4	0,12		0,15		0,14											
5			0,13		0,11	0,13										
6	0,08		0,12		0,16											
7	0,20		0,12		0,08											
8	0,09		0,13		0,12											
9																
10		0,16		0,32			0,38		0,44							
11		0,30		0,27			0,33		0,36							
12		0,09		0,35			0,40		0,45							
13		0,14		0,37			0,40		0,40							
n	6	4	8	4	8	4	4	3	4	3	3	3	3	3	3	1
m	0,11	0,17	0,15	0,22		0,25	0,38	0,32	0,38		0,33	0,23	0,21	0,18	0,20	0,21
s	±0,05	±0,09	±0,09	±0,126		±0,20	±0,03		±0,183							

Tab. 3: Inulin-Clearance in ml/min/g Feuchtgewicht in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer

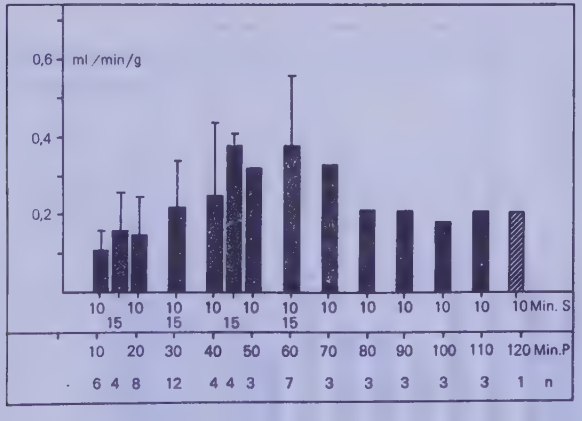

Abb. 9: Inulin-Clearance in ml/min/g Feuchtgewicht in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer (P)
S: Sammelperiode; n: Anzahl der Versuche; ▨ = Einzelwert

5.1.3. Harnvolumen

Das Harnvolumen zeigt sehr starke Schwankungen in den einzelnen Versuchen. Die Harnproduktion liegt zwischen 0,05 und 0,15 ml/min/g (Tab. 4 und Abb. 10).

Versuch	Zeit nach Versuchsbeginn in Minuten															
	0-10	0-15	10-20	15-30	20-30	30-40	30-45	40-50	45-60	50-60	60-70	70-80	80-90	90-100	100-110	110-120
1	0,03		0,05		0,10	0,13		0,15		0,15	0,15	0,14	0,13	0,11	0,10	
2			0,01		0,04	0,06		0,04		0,06	0,07	0,09	0,11	0,12	0,13	0,15
3	0,06		0,19		0,28	0,36		0,44		0,48	0,53	0,18	0,27	0,20	0,27	0,17
4	0,06		0,08		0,08											
5			0,01		0,05	0,08										
6	0,03		0,05		0,09											
7	0,04		0,06		0,01											
8	0,08		0,06		0,06											
9	0,13		0,03													
10		0,03		0,09			0,11		0,11							
11		0,09		0,11			0,11		0,12							
12		0,02		0,08			0,12		0,14							
13		0,03		0,11			0,11		0,11							
14	0,05		0,11		0,14	0,10		0,13		0,11	0,13	0,13	0,11	0,11	0,11	0,09
15	0,08		0,09		0,06	0,05		0,04		0,02	0,02	0,03	0,03			0,01
16	0,06		0,13		0,11	0,07		0,04		0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
17		0,05		0,06			0,06		0,08			0,11	0,12		0,13	0,13
18			0,08		0,07	0,08										
19				0,16			0,16		0,16							
20				0,01			0,01									
n	10	5	13	7	12	8	7	6	6	6	6	7	7	5	6	6
x	0,06	0,05	0,07	0,09		0,12	0,10	0,14	0,13		0,15	0,10	0,11	0,11	0,13	0,09
s	±0,03	±0,03	±0,05	±0,06		±0,10	±0,05		±0,12			±0,06	±0,08	±0,07	±0,09	

Tab. 4: Harnvolumen in ml/min/g Feuchtgewicht in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer

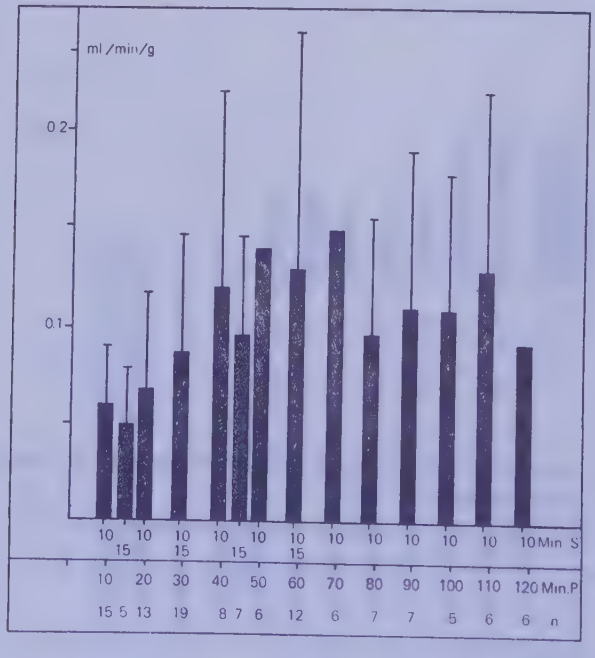

Abb. 10: Harnvolumen in ml/min/g Feuchtgewicht in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer (P)
S: Sammelperiode; n: Anzahl der Versuche

5.1.4. Natrium-, Kalium-Resorption

Innerhalb der ersten Stunde werden im Mittel ca. 50-60% des filtrierten Natriums resorbiert, nach 2 Stunden beträgt der resorbierte Anteil nur noch ca 20% (Tab. 5 und Abb. 11). Die Kalium-Resorption verhält sich annähernd wie die des Natriums (Tab. 6 und Abb. 12).

Aus technischen Gründen mußte in einigen Versuchen auf die Kaliumanalyse verzichtet werden.

Versuch	Zeit nach Versuchsbeginn in Minuten															
	0-10	0-15	10-20	15-30	20-30	30-40	30-45	40-50	45-60	50-60	60-70	70-80	80-90	90-100	100-110	110-120
1			57			33				14				5		
2					53	75				65	39		23	30	27	26
3	65		45		53	33		44		61	59	33		19	22	17
4	57		60		65											
5			75		49	55										
6	64		60		54											
7	68		60													
8	55		60		60											
9	52		54													
10		79		48			49		48							
11		40		44					44							
12		78		67			59		50							
13		73		55			59		60							
n	6	4	8	4	6	4	3	1	4	3	2	1	1	3	2	2
m	60,2	67,5	58,9	54,8		54	55,7	44	48,9		49	33	23	20	24,5	21,5
s	±6,4	±18,5	±8,4	±7,3		±17,2			±17,2							

Tab. 5: Natrium-Resorption in Prozent des glomerulär filtrierten Natriums

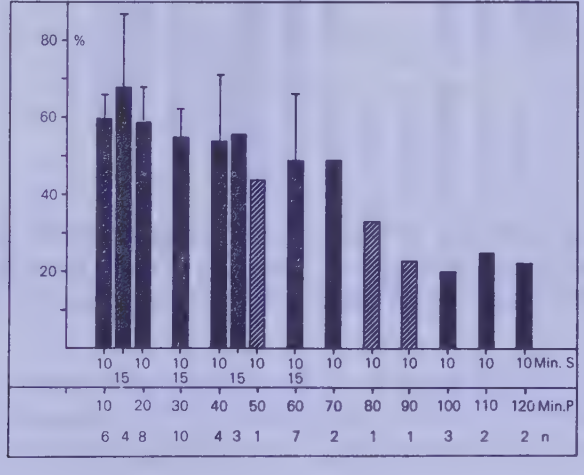

Abb. 11: Natrium-Resorption in Prozent des glomerulär filtrierten Natriums in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer (P)
S: Sammelperiode; n: Anzahl der Versuche; ▨ = Einzelwert

Versuch	Zeit nach Versuchsbeginn in Minuten												
	0-15	10-20	15-30	20-30	30-40	30-45	40-50	45-60	50-60	60-70	90-100	100-110	110-120
1					62				48	32	42	40	30
2		58		55	51		49			29	18	17	15
4		70		70									
5		52		69	77								
6		60		55									
8		48		47									
10	66		42			43		48					
11			30					21					
12			56					38					
13	55		44			43		48					
n	2	5	4	5	3	2	1	4	1	2	2	2	2
m	61	57	52		63	43	49	41		31	30	29	23
s		±8	±13					±12					

Tab. 6: Kalium-Resorption in Prozent des glomerulär filtrierten Kaliums

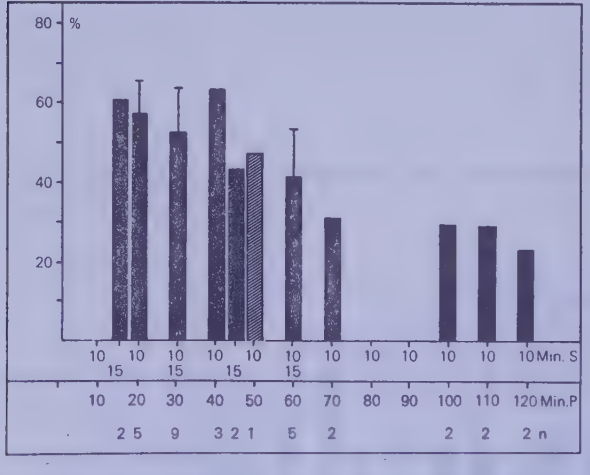

Abb. 12: Kalium-Resorption in Prozent des glomerulär filtrierten Kaliums in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer (P)
S: Sammelperiode; n: Anzahl der Versuche; ⟋ = Einzelwert

5.1.5. Wasser-Resorption

Wie Natrium und Kalium wird auch Wasser in der ersten Stunde zu etwa 50-60%, am Ende des Versuches zu etwa 20% resorbiert (Tab. 7 und Abb. 13).

Versuch	Zeit nach Versuchsbeginn in Minuten															
	0-10	0-15	10-20	15-30	20-30	30-40	30-45	40-50	45-60	50-60	60-70	70-80	80-90	90-100	100-110	110-120
1	34		37		30	35		24		11	5	1	2			
2			74		58	56		69		53	45	43	32	32	31	31
3	56		44		39	34		31		30	25	19	22	19	16	14
4	51		47		43											
5			84		53	43										
6	61		58		45											
7	60		55													
8	57		55		49											
9	50		65													
10		72		60			58		62							
11		49		44			49		49							
12		60		67			56		54							
13		63		57			57		56							
n	7	4	9	4	7	4	4	3	4	3	3	3	3	2	2	2
m	53	61	58	50		42	55	41	45		25	21	19	26	24	23
s	±9	±9	±13	±11		±16	±4		±18							

Tab. 7: Wasser-Resorption in Prozent des glomerulär filtrierte Wassers

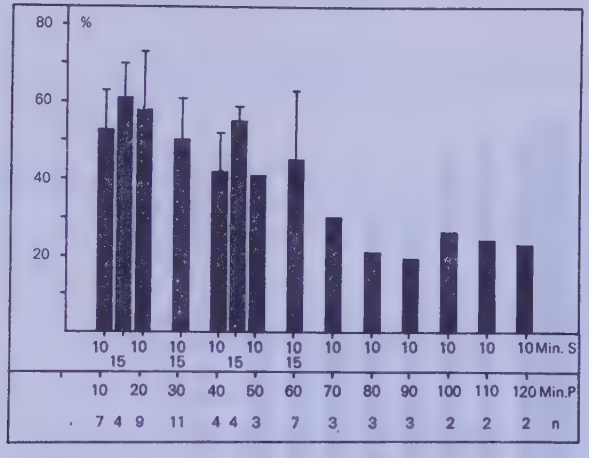

Abb. 13: Wasser-Resorption in Prozent des glomerulär filtrierten Wassers in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer (P)
S: Sammelperiode; n: Anzahl der Versuche

5.1.6. Glucose-Resorption

Im Gegensatz zu Natrium und Kalium wird Glucose innerhalb der ersten Stunde mit etwa 95% in hohem Maße resorbiert. In der zweiten Stunde fällt die Glucose-Resorption bis auf etwa 60% ab (Tab. 8 und Abb. 14).

Versuch	Zeit nach Versuchsbeginn in Minuten															
	0-10	0-15	10-20	15-30	20-30	30-40	30-45	40-50	45-60	50-60	60-70	70-80	80-90	90-100	100-110	110-120
1	94		95		93	94		93		90	87	66	64	52	52	45
2			97		95	95		95		89	88	76	83	84	82	82
3	94		95		93	94		93		89	87	66	64	52	52	45
4	83		82		83											
5			98		95	92										
6	94		97		94											
7	97		92		70											
8	82		79		85											
9	92		96													
10		97		97			95		94							
11		96		96			94		94							
12		99		96			95		93							
13		96		96			93		94							
n	7	4	9	4	8	4	4	3	4	3	3	3	3	3	3	3
m	91	97	92	94		94	94	94	92		87	69	70	63	62	57
s	±6	±1	±7	±1		±1	±1		±2							

Tab. 8: Glucose-Resorption in Prozent der glomerulär filtrierten Glucose in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer

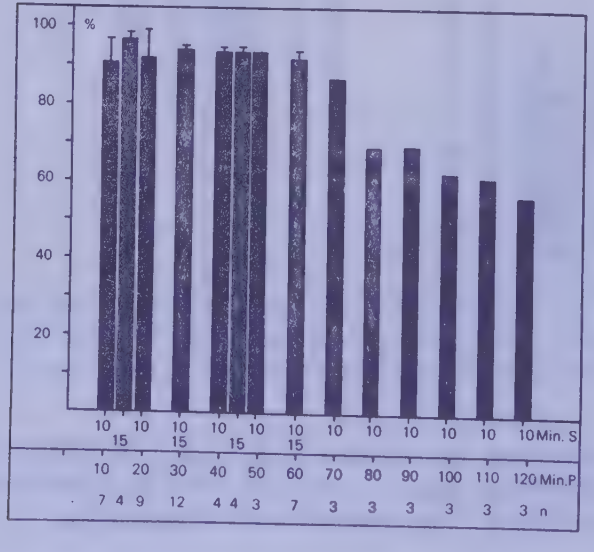

Abb. 14: Glucose-Resorption in Prozent der glomerulär filtrierten Glucose in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer (P)
S: Sammelperiode; n: Anzahl der Versuche

5.2. Biochemie

Zur biochemischen Charakterisierung des Nierenpräparates wurden folgende Größen bestimmt:

Sauerstoffaufnahme des Nierengewebes in vitro (5.2.1.)
Lactat-Pyruvat-Quotient des Nierengewebes (5.2.2.)
Gluconeogenese in vitro mit Pyruvat als Substrat (5.2.3.)

5.2.1. Sauerstoffverbrauch von Nierenschnitten in vitro

Der in diesem Kapitel angegebene Sauerstoffverbrauch von Nierenschnitten in vitro (Tab. 9), gemessen am Sauerstoffschwund aus dem Inkubationspuffer, bezieht sich auf eine Meßzeit von jeweils 5 Minuten.

Sauerstoffabnahme in % der Ausgangskonzentration					
Versuch	A	B	C	D	E
1	43	40	25	22	5
2	40	34	17,5	20	7
3	39	34	23	16	4
4	38	45	19	21,5	6
5		34			
6		39			
7		39			
n	4	7	4	4	4
m	40	38	21	20	5,5

Tab. 9: Sauerstoffverbrauch von Nierenrindenschnitten (20 mg) in KRPh-Puffer + 100 mg% Glucose, gemessen am Sauerstoffschwund über 5 Min. aus dem Inkubationsmedium der Meßzelle

A: Messung unmittelbar nach Töten der Tiere
Medium: KRPh-Puffer + 100 mg% Glucose

B: Messung unmittelbar nach Töten der Tiere
Medium: KRPh-Puffer + 100 mg% Glucose + 2,5 mg% Erycinum(R)

C: Messung nach 6stündiger Vorinkubation der Niere in KRPh-Puffer + 2,5 mg% Erycinum(R)
Medium: siehe B

D: Messung nach 60 Min. dauernder Perfusion
Medium: siehe B

E: Messung unmittelbar nach Töten der Tiere
Medium: KRPh-Puffer + 100 mg% Glucose + 2,5 mg% Erycinum(R) + KCN (10^{-3} m)

KRPh = Krebs-Ringer-Phosphat
KCN = Kaliumcyanid

Nach Abb. 15 ist ohne Zugabe von Gewebe keine Sauerstoffabnahme im Puffer meßbar.

Mit Schnitten von Nieren, die 2 - 5 Minuten nach dem Töten der Tiere entnommen wurden, beträgt der mittlere Sauerstoffschwund im Medium 40% (Beispiel: Abb. 16).

Das in allen Perfusionsversuchen als Antibioticum verwendete Erycinum$^{(R)}$ führt im akuten Versuch nicht zu einer Verminderung der Sauerstoffaufnahme (Beispiel: Abb. 17).

KCN-Zugabe zum Puffer in einer Konzentration von 10^{-3} m führt zu einer weitgehenden Hemmung der Sauerstoffaufnahme (Beispiel: Abb. 18).

Bei Nierenschnitten, die vor Messung des Sauerstoffverbrauchs in toto 1,5 - 2 Stunden in glucosehaltigem KRPh-Puffer bei 37° C inkubiert wurden, beträgt der Sauerstoffschwund im Medium ca. 30% (Beispiel: Abb. 19).

Nach 6stündiger Vorinkubation beträgt die Sauerstoffaufnahme des Nierengewebes im Mittel immer noch ca. 20% (Beispiel: Abb. 20).

Bereits nach einstündiger Perfusion der isolierten Niere fällt die Sauerstoffaufnahme des Nierengewebes im Mittel auf ca. 30% ab (Beispiel: Abb. 21).

Die Abb. 15 - 21 sind auf den folgenden Seiten zusammengestellt.

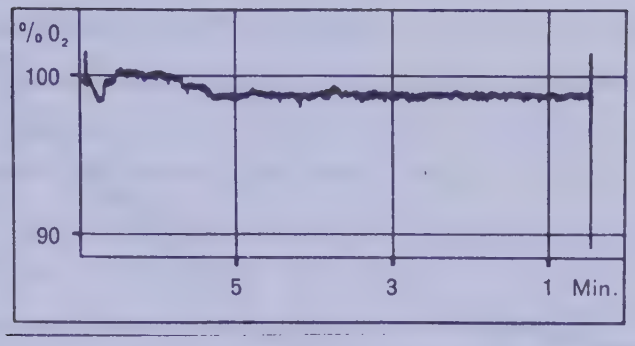

Abb. 15: Sauerstoffspannung in Krebs-Ringer-Phosphatpuffer in Abwesenheit von Nierengewebe

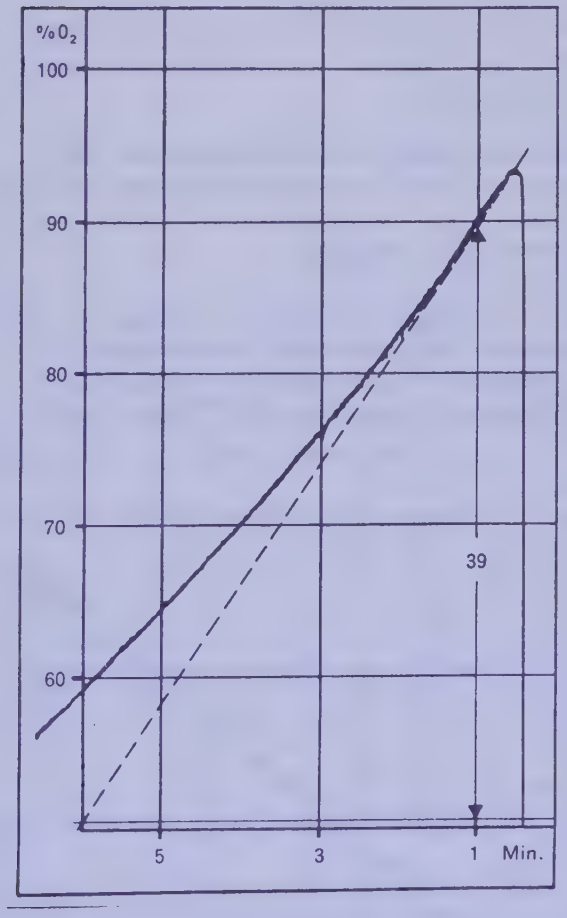

Abb. 16

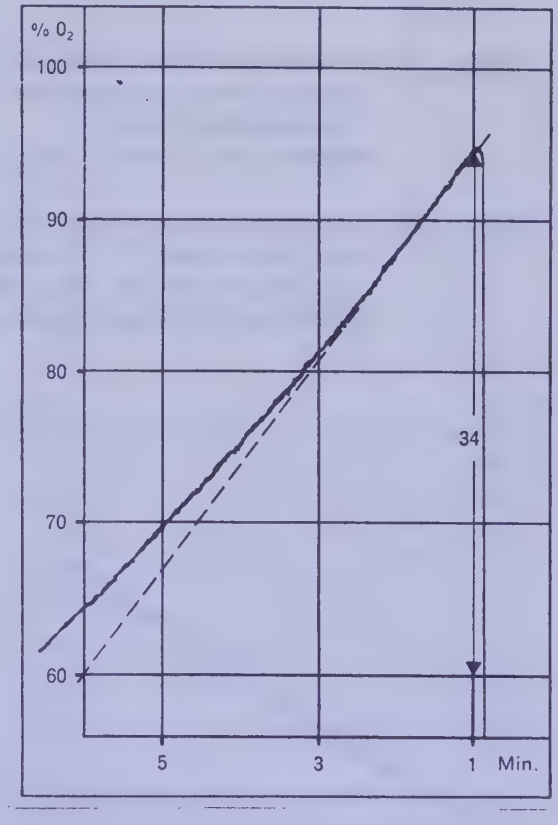

Abb. 17

Abb. 16: Sauerstoffspannung in Krebs-Ringer-Phosphatpuffer in Gegenwart von Nierenrindenschnitten
Meßbeginn 5 Min. nach Töten des Tieres

Abb. 17: Sauerstoffspannung in Krebs-Ringer-Phosphatpuffer mit 2,5 mg% Erycinum(R) in Gegenwart von Nierenrindenschnitten
Meßbeginn 4 Min. nach Töten des Tieres

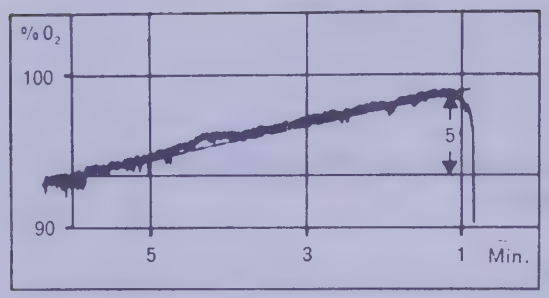

Abb. 18

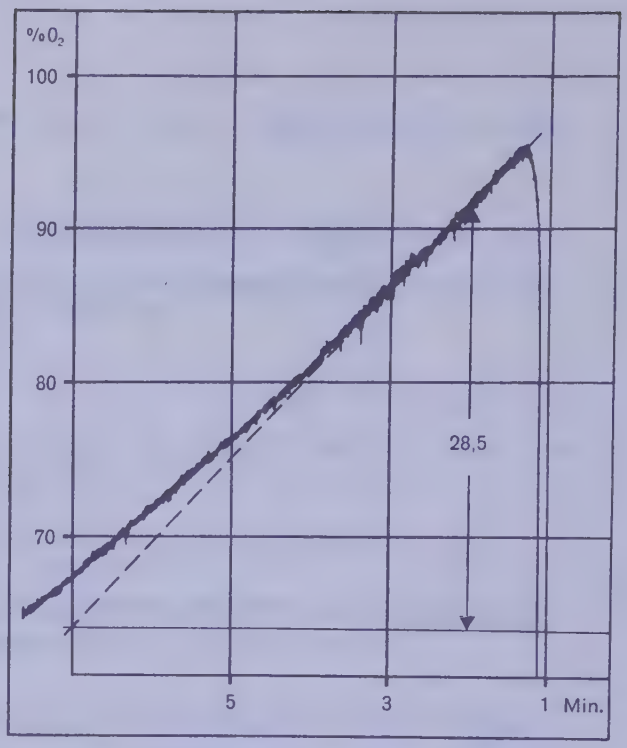

Abb. 19

Abb. 18: Sauerstoffspannung in Krebs-Ringer-Phosphatpuffer mit Zusatz von Kaliumcyanid (10^{-3} m) in Gegenwart von Nierenrindenschnitten
Meßbeginn 5 Min. nach Töten des Tieres

Abb. 19: Sauerstoffspannung in Krebs-Ringer-Phosphatpuffer + 2,5 mg% Erycinum(R) in Gegenwart von Nierenrindenschnitten. Die Niere wurde vor der Messung 110 Min. in toto in glucosehaltigem Krebs-Ringer-Phosphatpuffer inkubiert.

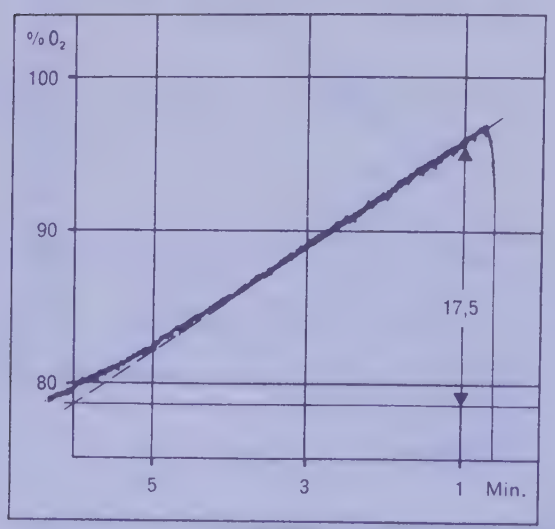

Abb. 20

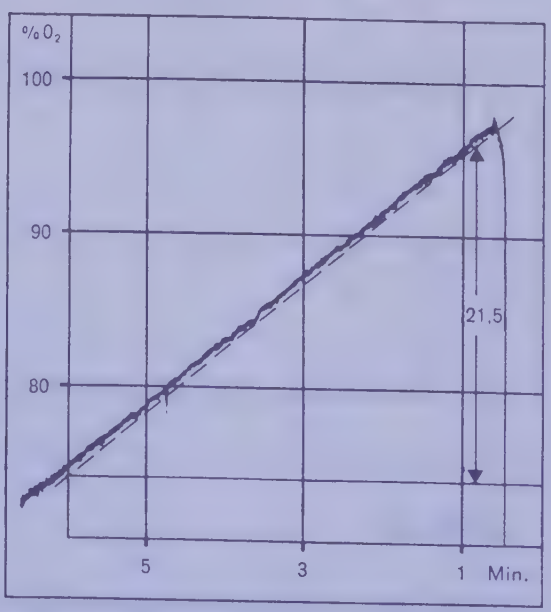

Abb. 21

Abb. 20: Sauerstoffspannung in Krebs-Ringer-Phosphatpuffer + 2,5 mg% Erycinum(R) in Gegenwart von Nierenrindenschnitten. Die Niere wurde vor der Messung 6 Std. in glucosehaltigem Krebs-Ringer-Phosphatpuffer inkubiert.

Abb. 21: Sauerstoffspannung in Krebs-Ringer-Phosphatpuffer + 2,5 mg% Erycinum(R) in Gegenwart von Nierenrindenschnitten. Die Niere wurde vor der Messung 60 Min. lang perfundiert.

5.2.2. Lactat/Pyruvat-Quotient von Nierengewebe

Die im vorstehenden Abschnitt beschriebene Herabsetzung der Sauerstoffaufnahme des Nierengewebes nach 60 Minuten dauernder Perfusion ließ eine Zunahme des Lactat/Pyruvat-Quotienten vermuten. Um angenähert die Größe des Lactat/Pyruvat-Quotienten unter 'In-Vivo'-Verhältnissen zu erhalten, wurde zunächst bei Nembutal(R)-narkotisierten Tieren der Lactat/Pyruvat-Quotient in der rechten Niere nach Gefrierstop bestimmt. Unter diesen Bedingungen beträgt der Lactat/Pyruvat-Quotient im Mittel 33 (Tab. 10).

	Versuch	Lactatkons. in mg%	Pyruvatkonz. in mg%	La / Py
Gruppe I	1	8,925	0,2905	37,5
	2	5,75	0,2015	28,6
	3	10,225	0,2425	42,5
	4	6,02	0,2315	26,0
	5	8,325	0,2463	33,8
	6	9,88	0,2315	42,75
	7	7,82	0,284	27,5
	8	7,82	0,253	30,9
	9	7,3	-	-
	10	6,1	0,2463	24,75
	n	10	9	9
	m	7,82	0,247	32,7
	s	±1,57	±0,027	±6,86
Gruppe II	1	4,95	0,2585	19,15
	2	5,93	0,2432	24,42
	3	10,40	0,2163	48,1
	4	12,95	0,2275	56,9
	5	8,5	0,2422	35,2
	6	3,695	0,175	21,10
	7	4,95	0,2685	18,45
	8	4,725	0,2610	18,10
	9	8,95	0,2125	42,01
	10	8,325	0,168	49,55
	11	6,18	0,179	34,6
	12	9,19	0,1305	70,45
	13	5,925	0,2085	28,4
	14	7,9	0,1565	50,5
	15	7,64	0,2275	33,6
	16	7,65	0,2050	37,15
	17	9,88	0,2240	44,2
	18	10,89	0,1865	58,4
	19	9,53	0,148	65,4
	20	8,75	0,2685	32,8
	n	20	20	20
	m	7,85	0,21	39,4
	s	±2,38	±0,04	±15,8

Tab. 10: Lactat- und Pyruvatgehalt in mg% und Lactat/Pyruvat-Quotient im Nierengewebe der Ratte

Gruppe I: Excision der Niere der narkotisierten Ratte

Gruppe II: Excision der linken Niere nach Anschluß der rechten Niere in situ an das Perfusionssystem

Zur Erfassung des Einflusses der Operation auf den Lactat/Pyruvat-Quotienten wurde unmittelbar vor dem Beginn der Perfusion der rechten Niere in situ in der linken Niere der Lactat/Pyruvat-Quotient bestimmt. Dazu wurde der linke Nierengefäßstiel unterbunden, die Niere excidiert und in flüssigem Stickstoff gefroren. Zwischen Unterbrechung der Blutzufuhr und Gefrierstop vergingen 10-15 Sekunden. Unter diesen Bedingungen weicht der Lactat/Pyruvat-Quotient im Mittel mit 39,4 nicht wesentlich von dem unter 'In-Vivo'-Bedingungen erzielten ab (Tab. 10).
In der perfundierten Niere schwankt der Lactat/Pyruvat-Quotient unabhängig von der Perfusionsdauer sehr stark und liegt im Mittel etwa bei 60 (Tab. 11).

Versuch	Perfusion Min.	Lactat mg%	Pyruvat mg%	La/Py
1	5	5,93	0,149	39,7
2	15	10,48	0,209	50,5
3	25	10,48	0,090	117,0
4	30	4,12	0,172	24,0
5	30	7,65	0,213	36,4
6	40	6,36	0,075	85,3
7	40	10,48	0,148	70,7
n		7	7	7
m		7,93	0,150	60,5
s		± 2,60	±0,054	±32,5

Tab. 11: Lactat- und Pyruvatgehalt in mg% und Lactat/Pyruvat-Quotient in perfundiertem Nierengewebe.

5.2.3. Gluconeogenese in vitro mit Pyruvat als Substrat

Um einen Einblick in die Stoffwechselleistung der perfundierten Niere zu erhalten, wurde in einigen orientierenden Versuchen geprüft, ob im perfundierten Nierengewebe die Fähigkeit zur Gluconeogenese aus Pyruvat erhalten bleibt. Die Untersuchungen wurden an Nieren durchgeführt, die 60 Minuten perfundiert worden waren. Zur Kontrolle wurde die Gluconeogenese in Nieren narkotisierter Tiere bestimmt, und zwar unmittelbar nach Narkoseeintritt.

Die Glucoseneubildung beträgt in beiden Versuchsgruppen im Mittel 80 µg/100 mg Feuchtgewebe/120 Minuten (Tab. 12).
Parallel zu den soeben beschriebenen Versuchen wurde jeweils die Beeinflussung der Glucoseneubildung durch den Hemmstoff der Gluconeogenese MICA [6] mituntersucht. Der Zusatz von MICA führt in allen Versuchen zu einer deutlichen Hemmung der Gluconeogenese (Tab. 12).

Gruppe	Versuch	Inkubationsmedium	Glucose µg/Ansatz	Glucosezunahme µg/100 mg Niere	▪
I	Niere 1	KRB + Py	259,0	91,3	81,7
		KRB	76,4		
		KRB + Py + MICA	32,4		
	Niere 2	KRB + Py	291,0	88,1	
		KRB	114,8		
		KRB + Py + MICA	71,0		
	Niere 3	KRB + Py	238,0	80,8	
		KRB	76,4		
		KRB + Py + MICA	11,8		
	Niere 4	KRB + Py	242,0	66,6	
		KRB	108,8		
		KRB + Py + MICA	8,8		
II	Niere 1	KRB + Py	168,8	77,6	78,2
		KRB	13,6		
		KRB + Py + MICA	42,3		
	Niere 2	KRB + Py	182,0	78,7	
		KRB	24,6		
		KRB + Py + MICA	36,6		
		Aqua bidest. + Py	0,0		

Gruppe I : Nierengewebe narkotisierter Ratten
Gruppe II: Nierengewebe nach 60 Minuten dauernder Perfusion
Pyruvat-Konzentration: 10^{-2} m; MICA-Konzentration: 10^{-3} m

Tab. 12: Gluconeogenese aus Pyruvat in µgGlucose/100 mg Nierenrindengewebe/120 Minuten

Gruppe I: Nierengewebe narkotisierter Ratten

Gruppe II: Nierengewebe nach 60 Minuten dauernder Perfusion

Pyruvatkonzentration: 10^{-2} m
MICA-Konzentration: 10^{-3} m

KRB = Krebs-Ringer-Bicarbonat
Py = Pyruvat
MICA = 5-Methoxy-Indol-2-Carbonsäure

5.3. Pharmakokinetik (Glymidin-Resorption)

Die Brauchbarkeit des in dieser Arbeit verwendeten Nierenpräparates für nierenpharmakologische Untersuchungen wurde orientierend durch die Perfusionsversuche mit tritium-markiertem Glymidin (siehe 3.8.) geprüft. Diese Verbindung wird bei Mensch und Tier fast vollständig tubulär resorbiert.
Im Mittel wurden innerhalb der ersten 10 Minuten 90% des glomerulär filtrierten Glymidins, nach 60 Minuten noch 65% tubulär resorbiert. Im Verlauf der zweiten Stunde fällt die Rückresorptionsrate auf ca. 40% ab (Tab. 13 und Abb. 22).

Versuch	Zeit nach Versuchsbeginn in Minuten									
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	60-70	70-80	80-90	90-100
1	95	95	87	80	84	79	75	79	66	79
2		75	68	71	71	63	63	45	43	37
3	84	83	72	70	64	52	32	25	18	10
n	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3
▪	90	84	76	74	73	65	57	50	42	42

Tab. 13: Glymidin-Resorption in Prozent des glomerulär filtrierten Glymidins in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer

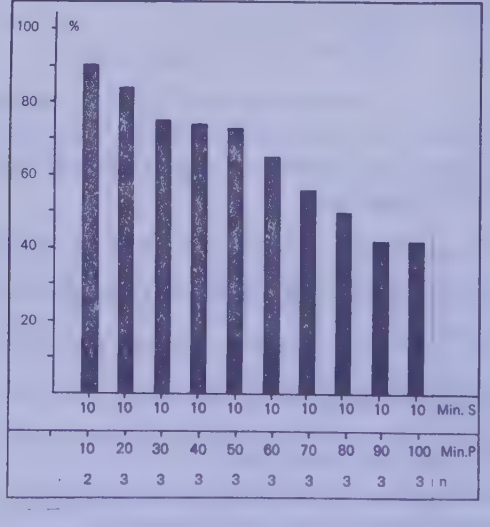

Abb. 22: Glymidin-Resorption in Prozent des glomerulär filtrierten Glymidins in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer
S: Sammelperiode; n: Anzahl der Versuche

6. DISKUSSION DER VERSUCHSERGEBNISSE

In der vorliegenden Arbeit wurde geprüft, ob sich die isoliert perfundierte Rattenniere als Versuchsmodell für die Bearbeitung spezieller Fragen der Pharmakokinetik eignet, z. B. für die Bestimmung der Harngängigkeit oder die Quote der tubulären Resorption bestimmter Pharmaka, wie z. B. Röntgenkontrastmittel oder Chemotherapeutika. Nierenphysiologische Untersuchungen waren erforderlich, um die Funktionsfähigkeit des Nierenpräparates nachweisen zu können.

Da unsere pharmakologische Arbeitsgruppe bislang keine Erfahrung auf dem Gebiet der Nierenperfusion hatte, mußten sowohl die apparativen Voraussetzungen als auch die Operationstechnik neu entwickelt werden.

Das angestrebte Perfusionsmodell ist nicht ohne Mängel. Obwohl seit mehr als hundert Jahren Nierenperfusionen durchgeführt werden und obwohl sich in den letzten Jahrzehnten zahlreiche Forschergruppen um die Nierenperfusion - sei es in situ, sei es extrakorporal - bemühten, ist es bis heute nicht gelungen, ein Nierenpräparat zu entwickeln, das den Verhältnissen des lebenden Organismus voll entspricht. Im Gegensatz dazu arbeiten die Leber und das Pankreas unter Perfusionsbedingungen über Stunden annähernd physiologisch.

In den folgenden Tabellen 14a und 14b sind die Ergebnisse einiger Arbeitsgruppen über Untersuchungen an der isoliert perfundierten Niere zusammengestellt.

Tierart	Perfusions-medium und/oder Besonderheiten	Perfusions-druck, mm Hg (Perfusions-dauer, min.)	Arterio-venöse Durchfluß-rate ml/min/g Nierengew.	Glomeruläre Filtr.-Rate ml/min/g Nierengewicht a) Inulin b) Kreatinin	Tubuläre Resorption in Prozenten des Glomerulumfiltrates				Harnvolumen ml/min/g Nierengewicht	Gluconeogenese aus Pyruvat µMol/g Nieren-trockengew./h	Autoren
					Glucose	Natrium	Kalium	Wasser			
Ratte	Haemaccel + Elektrolyte + Albumin	130-140 (60-120)	10-2	a) 0,1 - 0,4	1. h 97-92 2. h 90-60	70-50 50-20	65-40 40-20	60-50 50-20	0,05-0,15	ca. 12*	Ergebnisse dieser Arbeit
Ratte	Haemaccel + Elektrolyte + Albumin	90-140 (15-45)	3-6	a) 0,15-0,65	99,7-98	96-80	–	–	0,02-0,04	–	Weiss et al. 1959-1967 [117,118,15]
Ratte	Krebs-Henseleit + Elektrolyte + Albumin	ca. 90 (120-240)	16-30	b) 0,106-0,159	–	–	–	–	0,056	304 ± 40	Krebs et al. 1967 [80]
Ratte	Krebs-Henseleit + Haemaccel + Albumin	80-100 (15-75)	12,5±2,9	a) 0,568±0,124	–	86±5,4	–	–	0,135±0,045	–	Dume et al. 1966 [21]
Ratte	Krebs-Henseleit + Albumin	85-105 (60-120)	17,4±0,5	a) 1.h 0,57±0,03 2.h 0,34±0,02	–	92	18	–	0,046±0,004	–	Bahlmann et al. 1967 [2]
Ratte	Haemaccel + Elektrolyte	70-130 (40)	12-11	a) 0,38 ml/min	–	98-88	–	–	0,002-0,012	–	Fülgraff et al. 1968 [25]
Ratte	heparinisiert. Frischblut	100-140 (60-120)	ca. 3-1	a) 0,23-0,41 ml/min	95	94	84 ± 5	–	0,015-0,123	–	Bauman et al. 1963 [5]
Ratte	Mikropunktions-analysen	–	–	a) li 0,82±0,37 re 0,80±0,24	99,93	–	–	–	–	–	Rohde et al. 1968 [94]
Ratte in vivo	(KG = Körpergewicht)	–	4,4 ml/min	a) 1,2 (0,69-2,88) ml/min/200 g KG	–	–	–	–	0,006 (0,0033-0,011) ml/min/200g KG	–	Handbook of Biological Data 1956 [105]
	200-300 g KG	100	–	a) 0,81-1,29	–	–	–	–	0,008-0,02	–	Krause et al. 1967 [59]
	150-280 g KG	–	–	b) 0,698±0,43 ml/100 g KG	–	–	–	–	–	–	Peters 1959 [91]

* 1 g Nierentrockengewicht der Ratte entspricht 1 g Nierenfeuchtgewicht post perfusionem x 5,2 (KREBS et al. [80])

Tab. 14a: Datenvergleich zur Perfusion isolierter Nieren (I)

Tierart	Perfusions-medium und/oder Besonderheiten	Perfusions-druck, mm Hg (Perfusions-dauer, min.)	Arterio-venöse Durchfluß-rate ml/min/g Nierengew.	Glomeruläre Filtr.-Rate ml/min/g Nierengewicht a) Inulin b) Kreatinin	Tubuläre Resorption in Prozenten des Glomerulumfiltrates				Harnvolumen ml/min/g Nierengewicht	Gluconeogenese aus Pyruvat µMol/g Nieren-trockengew./h	Autoren
					Glucose	Natrium	Kalium	Wasser			
Hund	heparinisiert. Blut	120-180 (100)	0,6-ca.3	–	–	–	–	–	0,004-0,02	–	Jacobj et al. 1892 [50]
Hund	hirudin.Blut, Herz-Lungen-Nierenpräparat	100 (60-90)	1-2,7	–	–	–	–	–	ca. 0,02-0,05	–	Bainbridge et al. 1914 [3]
Hund	defibrin.Blut, Lungen-Nieren-präparat	100-120 (20-50)	2,6-4	–	–	–	–	–	ca.0,015-0,033	–	Hemingway 1931 [40]
Hund	heparinisiertes Blut	110 (30-150)	3-7	b) 0,37-0,62	–	98-92	–	–	0,012-0,09	–	Nizet et al. 1967/68 [84,85,86,87,88]
Hund	heparinisiertes Blut	100-120 (105)	2-4,5	–	–	–	–	–	0,01-0,06	ca. 13*	Bahlmann et al. 1965 [1]
Hund	Mikropunktions-analysen	95-160	5,34±1,15	a) 0,95±0,31	–	–	–	–	–	–	Liebau et al. 1968 [66]
Hund in vivo	Körpergew.: 13kg 7 g Nierengew. / kg KG	–	ca. 1,72	a,b) ca. 0,5 (0,33-0,8)	–	–	–	–	ca. 0,003 (0,002-0,004)	–	Handbook of Biological Data 1956 [105]
Katze	heparinis.Blut, Herz-Lungen-Nierenpräparat Pumpe-Oxygenator	120 (100-150)	ca. 1,7	b) ca. 0,3 b) ca. 0,37	–	99 96,6	–	99,3 98,3	0,004-0,01 ca. 0,011	–	Lockett 1967 [69]
Katze in vivo	7 g Nierengew. / kg KG	–	–	–	–	–	–	–	ca. 0,0025 (0,002-0,03)	–	Handbook of Biological Data 1956 [105]
Kaninchen	heparinis.Blut, Herz-Lungen-Nierenpräparat	82±4	ca. 2,1	b) ca. 0,26	–	93,9±3,7	–	–	0,016±0,01	–	Rosenfeld et al. 1965 [95]
Kaninchen in vivo	KG: 3 kg 7 g Nierengew. / kg KG	–	ca. 2,5	a,b) ca. 0,72 (0,38-1,03)	–	–	–	–	ca. 0,009 (0,002-0,03)	–	Handbook of Biological Data 1956 [105]

* Trockengewicht geschätzt nach Angaben von NIZET [84]

Tab. 14b: Datenvergleich zur Perfusion isolierter Nieren (II)

Um eine initiale, bisweilen irreversible Phase der Vasokonstriktion zu vermeiden, wählten wir in unseren Versuchen einen Perfusionsdruck, der zwar über dem physiologischen Blutdruck der Ratte, jedoch im Bereich der sog. Autoregulation der Nierendurchblutung lag. Die Warmblüterniere besitzt die Fähigkeit, die Rindendurchblutung innerhalb eines bestimmten Druckbereiches durch Anpassung des Strömungswiderstandes an erhöhte Perfusionsstromdrucke bei gleichbleibender Glomerulumfiltrationsrate annähernd konstant zu halten (u. a. THURAU et al. 1959 und 1968 [107,108,111]). Dieses Phänomen der Autoregulation gilt auch für die isolierte, zellfrei perfundierte Rattenniere (OCHWADT 1956 [89], WEISS et al. 1959-1968 [117,65,64,4,8]).
Bei der Perfusion mit Haemaccel liegt der Autoregulationsbereich um 80-200 mm Hg; unterhalb und oberhalb dieser Grenzwerte steigt die Perfusionsstromstärke annähernd linear zum Perfusionsdruck an. Die Autoregulation läßt sich durch Pharmaka (z. B. Novocain, Papaverin, teilweise auch durch Sympathicolytica aus der Gruppe der α-Rezeptorenblocker wie Regitin, Dibenamin) und Hypoxie in Abhängigkeit von Dosis und Wirkungsdauer reversibel bis irreversibel ausschalten [65,4]. Unser Perfusionsmedium enthielt keine Substanzen, von denen eine Beeinflussung der Autoregulation bekannt ist.

Trotz zahlreicher Untersuchungen ist der Mechanismus der Autoregulation der Nierendurchblutung noch nicht geklärt. Möglicherweise liegt ihm eine druckempfindliche Reaktion der Gefäßmuskulatur der präglomerulären Nierenarteriolen zugrunde.
Die unphysiologisch hohe arteriovenöse Durchflußrate bei der Perfusion mit Haemaccel (Übereinstimmung mit anderen Autoren siehe Tab. 14a) erklärt sich aus der geringen Viskosität des zellfreien Perfusionsmediums. Es ist von Vorteil, daß durch die hohe Fließgeschwindigkeit das Sauerstoffangebot pro Zeiteinheit in einem erythrozytenfreien Perfusionsmedium verbessert wird. Andererseits kommt es zu einer verstärkten Durchströmung des Nierenmarks mit verkürzter tubulärer Passagezeit und Herabsetzung der tubulären Resorptionsleistung sowie vermehrter Diurese. Rinden- und Markdurchblutung sind funktionell voneinander unabhängig. Die Markdurchblutung beträgt physiologischerweise nur etwa 1% der Gesamtnierendurchblutung, unterliegt nicht der Autoregulation, sondern erfolgt passiv druckproportional, wobei der Regulationsmechanismus noch unklar ist (vgl. u. a. THURAU et al. 1959 und 1968 [108,111], WINDHAGER 1969 [120]).

Das Blut, das durch das Nierenmark fließt, muß nicht postglomerulären Ursprungs sein; durch die Eröffnung arteriovenöser Shunts scheint eine Verminderung der renalen Kapillardurchströmung bei unveränderter oder sogar erhöhter Nierengesamtdurchblutung möglich zu sein (HÁRSING et al. 1967 [38]). Gefäßkurzschlüsse in der Niere von Säugetier und Mensch sind schon sehr lange nachgewiesen (in der Niere des Hundes durch GEBERG 1885, im Rindenparenchym der Menschenniere durch GOLUBEW 1893, zwischen den Aa. und Vv. corticales radiatae in der Menschenniere durch SPANNER 1937; vgl. RAUBER-KOPSCH [92] und WALDEYER [116]). LJUNGQVIST fand 1965 in den meisten Glomerula der Menschenniere bypass-ähnliche Verbindungen zwischen afferenter und efferenter Arteriole [68]. Durch die Eröffnung arteriovenöser Kurzschlüsse zwischen den Aa. und Vv. corticales radiatae lassen sich bestimmte Nierenrindenbezirke aus der Zirkulation ausschalten.

Die effektive Treibkraft für den Blutstrom in der Niere resultiert aus der Druckdifferenz zwischen Nierenarterien- und Gewebsdruck (WINSHAW et al. 1959/60 [46,47]). Da es bei der Perfusion isolierter Nieren mit zunehmender Versuchsdauer zu einer ödematösen Schwellung des Organs kommt - dies wurde sowohl bei der Perfusion mit Haemaccel als auch bei der mit Krebs-Ringer-Henseleit-Lösung und Blut beobachtet, und zwar bei der Ratte [65,118,80,5], beim Hund [84] und beim Schwein [90] -, ist die allmähliche Entstehung des folgenden Circulus vitiosus denkbar: Erhöhter Perfusionsdruck und hohe arteriovenöse Durchflußraten bei gleichzeitiger Abflußbehinderung im Lymphgefäßsystem (bei der Herstellung des Nierenpräparates lassen sich Unterbindungen hilusnaher Lymphgefäße nicht vermeiden) sowie Fortfall aller Regulationsmechanismen, die das Organ in vivo aufweist, begünstigen die Entstehung eines interstitiellen Ödems mit Permeablilitäts- und Funktionsstörungen der Tubuli, allmählicher Gewebshypoxie, erhöhtem intravasalem, intratubulärem und intraglomerulärem Druck mit Absinken der arteriovenösen Durchflußraten und des Glomerulumfiltrates. Die hohen Durchflußraten zu Perfusionsbeginn waren in unseren Versuchen bei gleichbleibendem Perfusionsdruck nach ca. einstündiger Perfusion auf Werte des physiologischen Bereiches, dann kontinuierlich auf subnormale Werte gefallen und ließen sich auch nicht mehr durch Perfusionsstromdrucke erhöhen, die oberhalb des Autoregulationsbereiches lagen.

KREBS und Mitarbeiter [80] registrierten an isolierten Rattennieren post perfusionem einen Gewichtsanstieg um 40%; bei perfundierten Lebern betrug der Gewichtsanstieg nur 3%. NIZET [84] berichtete über einen Gewichtsanstieg um 20% bei der isoliert perfundierten Hundeniere.

Histologisch wurden an isolierten Ratten- und Hundenieren post perfusionem festgestellt: partielle Tubulusdilatation mit Verschmälerung der Epithelsäume, geringfügige Eiweißpräzipitation in Tubuluszellen und Glomerulumkapillaren, leichte Erweiterung und Ödem des Interstitiums; überwiegend waren die Strukturen jedoch normal [80,5].

In unseren Versuchen bestimmten wir die glomeruläre Filtrationsrate mit Hilfe der Inulin-Clearance. Bis in die jüngste Zeit ist immer wieder bezweifelt worden, daß Inulin ausschließlich glomerulär filtriert wird (vergl. u. a. SHEHADEH et al. 1964 [103]). Jedoch ergaben Mikropunktionen keinen Anhalt für eine relevante tubuläre Resorption oder Sekretion (BAUMANN et al. 1965 [7], MARSH et al. 1965 [74], GUTMAN et al. 1965 [36]). Nach wie vor gilt Inulin als geeignete Prüfsubstanz für die Messung des Glomerulumfiltrates und die quantitative Wasserresorption aus den Tubuli der Rattenniere unter den Bedingungen des freien Flusses. Die Werte der Inulin-Clearance in vivo weisen bei der Spezies Ratte erhebliche Schwankungen von Tier zu Tier auf (PETERS 1959 [91], KLEINMAN et al. 1965 [53]); bei jungen Ratten liegen die glomerulären Filtrationsgrößen in der Relation zum Körpergewicht beträchtlich höher als bei alten (MORRISON et al. 1966 [76], BRADE et al. 1969 [14]). In Anlehnung an WEISS, KREBS u. a. berechneten wir unsere Clearancewerte auf die Bezugsgrößen ml/min/g Nierenfeuchtgewicht. Die Normalwerte dafür liegen im Streubereich von ca. 0,8-1,2 (siehe Tab. 14a) für Ratten mit einem Körpergewicht von 200-300 g; das entspricht der Gewichtsklasse unserer Versuchstiere. Wir erzielten nach einstündiger Versuchsdauer eine Inulin-Clearance von ca. 0,4 ml/min/g, die im weiteren Perfusionsverlauf kontinuierlich abfiel. Nahezu alle Autoren, die Perfusionsversuche an isolierten Nieren durchführten (Tabb. 14a und 14b), fanden eine Einschränkung der glomerulären Filtrationsrate - sowohl für die Inulin- als auch die exogene Kreatinin-Clearance - um 40-50% mit weiterer Falltendenz bei andauernder Perfusion. Die Verringerung des Glomerulumfiltrates trotz normaler oder stark erhöhter arteriovenöser Durchflußraten legt die Vermutung nahe,

daß entweder bestimmte Nierenparenchymbezirke durch Vasokonstriktion oder durch die Eröffnung arteriovenöser Anastomosen aus der Zirkulation ausgeschaltet werden; die weitere kontinuierliche Abnahme der Filtrationsraten könnte durch die Nierenschwellung intra perfusionem mit Erhöhung des intratubulären Druckes bis auf Werte des glomerulären Filtrationsdruckes erklärt werden.
Die Clearance-Untersuchungen basieren auf der Annahme, daß mindestens 90% des arteriellen Nierenblutes die Glomerula passieren. Könnte durch die Eröffnung arteriovenöser Anastomosen eine größere Blutmenge die Niere extraglomerulär durchfließen, wären die Clearance-Bestimmungen anfechtbar, insbesondere die Bestimmung des Glomerulumfiltrates an isolierten Nieren, die im Recycling-Verfahren perfundiert werden.
Bei Untersuchungen an narkotisierten Hunden - das sei ergänzend erwähnt - stellten NASHAT und PORTAL [77] 1967 eine Beeinflussung der Filtrationsfraktion durch Viskositätsänderungen des Blutes fest, nämlich eine Zunahme der Filtrationsfraktion bei erhöhtem, eine Abnahme bei erniedrigtem Hämatokrit. Bei der Perfusion des isolierten Organs ist die glomeruläre Filtration jedoch gleichermaßen eingeschränkt bei Durchströmung mit Blut wie bei Verwendung von Perfusionsmedien niederer Viskosität (siehe Tabb. 14a und 14b).

Unter physiologischen Bedingungen werden im Nephron über 99% der filtrierten Flüssigkeit und gelösten Substanzen resorbiert; ca. 60% der filtrierten Natrium- und Kalium-Ionen werden im proximalen Tubulus, 15-20% in der Henleschen Schleife, jeweils weitere 10% der Natrium-Ionen im distalen Tubulus und Sammelrohr resorbiert; Kalium-Ionen können im distalen Tubulus und im Sammelrohr sezerniert werden (BAHLMANN 1967 [2], FÜLGRAFF 1967 [24], HIERHOLZER 1968 [44]). Resorptions- und Transportmechanismus der Kationen sind noch nicht restlos geklärt; neuere Theorien hierzu werden im folgenden erwähnt. Mit der aktiven Natriumresorption ist die tubuläre Diffusion von Wasser, Chlor- und Bicarbonat-Ionen gekoppelt.
Die Henleschen Schleifen und Sammelrohre können als ein Gegenstromsystem aufgefaßt werden. Die Vasa recta des Nierenmarks funktionieren nach folgendem Gegenstromaustauschprinzip: durch die permeablen Kapillarwände können gelöste Substanzen in beide Richtungen passiv in das Interstitium des Nierenmarks diffundieren, so

daß zwischen Vasa recta und Interstitium des Nierenmarks nur geringe Druckdifferenzen bestehen, andererseits aber das Konzentrationsgefälle zwischen Rinde und Mark aufrechterhalten bleibt. Dieses sog. Haarnadel-Gegenstrom-Multiplikationssystem (HARGITAY und KUHN 1951 [37]) ermöglicht den Harnkonzentrierungsmechanismus. Es ist inzwischen allgemein anerkannt worden. Das Wirkungsprinzip sei hier nur skizziert, um Funktionsunterschiede der isoliert perfundierten Niere besser erklären zu können.

Im proximalen Tubulus diffundiert Natrium aus dem Tubuluslumen in die Tubuluszelle (dieser rein passive Vorgang wird angezweifelt; u. a. von HIERHOLZER et al. 1966 [43]), muß aber aktiv zur peritubulären Seite gegen den Konzentrationsgradienten, der sich aus intra- und extrazellulärer Natriumkonzentration ergibt, heraustransportiert werden. Aus dem Tubuluslumen strömen Chlor-Ionen und Wasser passiv nach, bis das Glomerulumfiltrat isoosmotisch mit dem peritubulären Plasma ist. Bei Weiterfluß entlang der absteigenden Henleschen Schleife in Richtung auf die Markpapille gelangt die tubuläre Flüssigkeit in die zunehmend hypertone Umgebung des Nierenmarks. Wasser diffundiert demzufolge aus dem Tubuluslumen in das Interstitium, Natrium in das Tubuluslumen (passiv?). Dadurch steigt der intratubuläre osmotische Druck und ist schließlich im Papillenbereich viermal so groß wie in der Rinde. Bei der weiteren Passage im aufsteigenden, dicken Schenkel der Henleschen Schleife werden Natrium-Ionen aktiv in das Interstitium gepumpt und verursachen so die Hypertonizität des Nierenmarks. Da die Grenzschichten der Henleschen Schleife in diesem Bereich wasserundurchlässig sind, kann kein Wasser aus dem Tubuluslumen nachströmen, und der Harn wird im Verlauf des aufsteigenden Schenkels der Henleschen Schleife bis zum Einströmen in den distalen Tubulus der umgebenden Nierenrinde gegenüber hypoton. Im weiteren Verlauf des distalen Tubulus können die Tubuluszellen unter dem Einfluß des antidiuretischen Hormons (ADH, Vasopressin) wasserpermeabel werden. Im Normalfall wird der Harn im mittleren Bereich des distalen Tubulus mit dem umgebenden Interstitium wieder isoton. Im weiteren Verlauf des distalen Tubulus können Natrium-Ionen wieder aktiv aus dem Tubuluslumen gepumpt werden unter Nachströmen von Wasser, und in den Sammelrohren, wo Natrium- gegen Kalium- und Wasserstoff-Ionen ausgetauscht werden können, entsteht ein zunehmend hypertoner Endharn, der die siebenfache Osmolarität des Plasmas erreichen

kann (vgl. u. a. ULLRICH et al. 1958 und 1961 [45,113], KIIL et al. 1961 [52], SCHIRMEISTER 1968 [100], HIERHOLZER 1968 [44]).
Die Annahme, daß Natrium- und Kalium-Ionen im proximalen Tubulus per diffusionem resorbiert werden, blieb nicht unwidersprochen. HIERHOLZER und Mitarbeiter (1966 [43]) fanden bei Mikropunktionsuntersuchungen an adrenalektomierten Ratten sowohl im proximalen als auch im distalen Tubulus eine Hemmung der Natriumresorption, jedoch blieb der transtubuläre Natriumkonzentrationsgradient im proximalen Tubulus unverändert, im distalen war er erniedrigt. Eine primäre Hemmung des aktiven Natriumtransportsystems müßte analog zu distal auch proximal zu einem Anstieg der intraluminalen Natriumkonzentration führen. Würde Na^+ an der luminalen Seite passiv in die Tubuluszelle eindringen und auch der Rückstrom von Na^+ aus dem Interstitium in das Tubuluslumen durch die Tubuluszellen hindurch passiv erfolgen, müßten im stationären Zustand sowohl der Netto-Natriumtransport durch die Tubuluszelle als auch die Netto-Natriumflüsse an der luminalen und peritubulären Zellmembran Null sein. Jedoch befindet sich die luminale Zellseite im stationären Zustand de facto nicht im Gleichgewicht. Die Autoren diskutieren folgende Möglichkeiten:

1. Der Eintritt von Na^+ in die proximale Tubuluszelle erfolgt nicht nur durch einen rein passiven Diffusionsvorgang

oder 2. Die Natrium-Ionen fließen an der luminalen Zellseite zwar passiv in die Tubuluszelle, werden aber durch einen aktiven Pumpmechanismus teilweise wieder in das Lumen zurückgepumpt

oder 3. Der Rückstrom von Na^+ aus dem Interstitium in die tubuläre Flüssigkeit erfolgt nicht durch die Tubuluszellen hindurch, sondern über einen parallel geschalteten, intercellulären Kurzschlußweg (Literatur hierzu bei THURAU et al. 1968 [111])

oder 4. Im distalen Tubulus ist an der peritubulären Seite ein aktiver Natriumtransportmechanismus lokalisiert, zelleinwärts an der luminalen Seite erfolgt der Natriumeinstrom passiv.

Möglicherweise sind bei Nebennierenausfall im proximalen Tubulus sowohl der Einstrom von Na^+ in die Tubuluszelle als auch der Rückfluß von Na^+ in das Tubuluslumen gehemmt, und zwar im distalen

Tubulus der Natriumtransport bei unverändertem passivem Rückstrom von Na^+ entweder durch eine Hemmung des Natrium-Pumpmechanismus oder aber durch eine Abnahme der luminalen Diffusionsbarriere für Na^+. Aldosteron fördert den Natriumtransport wahrscheinlich über eine vermehrte Energiebereitstellung für den Pumpmechanismus durch Stimulierung von Enzymaktivitäten und wirkt nicht primär auf die Natriumpermeabilität der Tubuluszellen ein (KIRSTEN et al. 1968 [54]). Bei Nebennierenausfall wird die verminderte proximale Natriumresorption durch Weiterstellung der Tubuli und längere Verweildauer größtenteils kompensiert, so daß nur 2-3% der glomerulär filtrierten Natrium-Ionen bilanzmäßig der Aldosteronsteuerung unterliegen (GERTZ et al. 1965 [32], HIERHOLZER et al. 1966 und 1968 [43,44]). Unter physiologischen Bedingungen bewirkt Aldosteron durch vermehrte Natriumretention eine erhöhte intravasale und interstitielle Natriumkonzentration und löst über Osmorezeptoren eine vermehrte Produktion von ADH aus. Das Adiuretin stellt durch Diuresehemmung schnell wieder Isoionie her. In der Steuerung führt Aldosteron vor ADH. In Gegenwart von ADH kann Wasser sowohl im absteigenden, dünnen Teil der Henleschen Schleife als auch im distalen Tubulus und in den Sammelrohren resorbiert werden. Angiotensin II scheint die renale Hämodynamik und die Größe des Glomerulumfiltrates durch Vasokonstriktion des Vas afferens und dadurch indirekt die Natriumresorption zu beeinflussen und auch eine Rolle beim intrarenalen Rückkopplungsmechanismus in den Macula densa-Zellen des juxtaglomerulären Apparates zu spielen, der den Widerstand im Vas afferens beeinflußt. Angiotensin bewirkt auch eine Ausschüttung von Aldosteron aus der Nebennierenrinde. Ob Angiotensin selbst direkt hemmend auf die Natriumresorption im Nephron wirkt, ist noch nicht geklärt (THURAU et al. 1965 [110], zusammenfassende Darstellung bei THURAU et al. 1968 [111]).

Neuerdings wird auch die Existenz eines natriuretischen Hormons diskutiert, das nach Erhöhung des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens eine vermehrte Natriurese bewirkt. Der Entstehungsort ist noch unklar (Literatur bei THURAU et al. 1968 [111]).
Ähnlich wie Na^+ wird auch K^+ im proximalen Tubulus zu etwa 60% und in der Henleschen Schleife zu etwa 15% resorbiert (MARSH et al. 1963 [73]). Die Resorption erfolgt sehr wahrscheinlich in einem aktiven Prozeß und gegen einen erheblichen elektrochemischen

Gradienten. Die endgültige Höhe der Kaliumausscheidung wird erst im distalen Tubulus bestimmt, wo entweder der größte Teil des intratubulär verbliebenen K^+ noch (aktiv) resorbiert, oder K^+ zusätzlich in das Tubuluslumen sezerniert werden kann. Der Einstrom von K^+ in das Tubuluslumen erfolgt sehr wahrscheinlich passiv entlang eines Konzentrationsgradienten (MALNIC et al. 1964 [72]). Das Ausmaß des Kaliumstromes in das Tubuluslumen wird zu einem erheblichen Teil von der luminalen Na^+-Konzentration bestimmt (BERLINER et al. 1954 [9]). Möglicherweise existiert an der peritubulären Seite ein gemeinsamer aktiver Mechanismus für den Heraustransport von Na^+ und den Hineintransport von K^+. Die luminale Permeabilität ist an dieser Stelle für Na^+ und K^+ annähernd gleich groß (Literatur bei WINDHAGER [120]).

Die Aufrechterhaltung von Konzentrationsgradienten für Na^+ und K^+ zwischen intra- und extrazellulärem Raum ist vom oxidativen Stoffwechsel abhängig. Vom Gesamtsauerstoffverbrauch der Niere entfallen ca. 99% auf die Rinde und auf die äußere Markzone (KRAMER et al. 1960 [58]). Davon werden ca. 45% für den aktiven Natriumtransport benötigt (WEISS et al. 1967 [35]). Zahlreiche Untersuchungen sprechen dafür, daß die Energie für den Kationentransport (und auch für den Glucosetransport) über den Abbau der energiereichen Phosphate gesteuert und bereitgestellt wird (vgl. u. a. WEISS et al. 1967 [35], WIEDERHOLT et al. 1968 [119]). Untersuchungen von WEISS und Mitarbeitern [96] an isolierten Tubuluszellen der Rattenniere bestätigen die Ergebnisse früherer Experimente, wonach die Energiefreisetzung für den aktiven Natriumtransport durch eine Na^+- und K^+-aktivierte, durch Strophanthin hemmbare ATPase gesteuert wird. (Nach FÜLGRAFF 1967 [24] wird der durch Na^+ und K^+ aktivierte Anteil dieser Transport-ATPase durch Ca^{++} gehemmt.

An der isoliert perfundierten Rattenniere verursacht eine Erhöhung der Ca^{++}-Konzentration im Perfusionsmedium eine signifikant erhöhte Natriumausscheidung, jedoch keine Kaliurese, darüberhinaus eine Hemmung der Permeabilität des distalen Tubulus für Wasser, ohne die ADH-Wirkung ganz zu unterdrücken. Der Mechanismus der diuretischen Wirkung von Calcium-Ionen ist noch nicht geklärt. Vgl. LASSITER et al. 1965 [63], FÜLGRAFF et al. 1968 [25]).

Da Strophanthin an der Rattenniere in gleichem Ausmaß die Natrium- und Glucoseresorption hemmt, wird ein gemeinsamer Transport-

mechanismus für Natrium und Glucose angenommen. Jedoch wird erst bei stark erniedrigter extrazellulärer Na^+-Konzentration eine zur vollen Aktivierung der Transport-ATPase erforderliche intrazelluläre Minimalkonzentration unterschritten und erst dann eine Beeinträchtigung der Glucosetransportleistung eintreten; bei völligem Fehlen von Na^+ in der extrazellulären Flüssigkeit werden noch ca. 25% der Glucose resorbiert. Da die Natriumresorption in der Niere die gleichzeitig resorbierte Glucose mengenmäßig übersteigt und für den Glucosetransport keine elektrischen Gradienten zu überwinden sind, fällt der Energieaufwand für den Glucosetransport gegenüber dem für den Natriumtransport nicht ins Gewicht (WEISS et al. 1967 [96]).

Durch Mikropunktionsuntersuchungen entstanden Zweifel am Konzept eines tubulären Transportmaximums der einzelnen Tubuluszelle für Glucose. VAN LIEW et al. (1967 [67]) fanden bei normalen und auch stark überschwelligen Plasmaspiegeln (über 500 mg%) eine Abhängigkeit der maximal resorbierten Glucose von der Größe des Glomerulumfiltrates, nicht jedoch von der Länge des resorbierenden Nephronabschnittes. Am Ende des proximalen Tubulus liegt die Glucosekonzentration etwa in der gleichen Größenordnung wie im Endharn und beträgt ca. 0,07% des 'loads' (ROHDE et al. 1968 [94]).

DEETJEN und Mitarbeiter (1968 [19]) stellten in Mikroperfusionsexperimenten an der Rattenniere im proximalen Tubulus eine Abhängigkeit der Glucoseresorption von der tubulären Perfusionsstromstärke fest, außerdem eine lineare Korrelation zwischen Glucosetransport und Wasserresorption. Jedoch stößt der Nachweis einer echten Korrelation zwischen Glucose- und Wasserresorption auf eine methodische Schwierigkeit: In die Berechnung beider Größen gehen die gleichen Meßwerte ein (Glomerulumfiltrat und Harnzeitvolumen), dadurch ist eine Beziehung zwischen beiden Größen bereits vorausgesetzt. Das trifft auch zu für die in unseren Perfusionsversuchen bestimmten Resorptionsquoten für Glucose, Kalium, Natrium und Wasser. Bei unseren Berechnungen entzieht sich die Größe der distalen Kalium- und Wasserausscheidung der Beurteilung.

Neben der oben besprochenen Verminderung der glomerulären Filtrationsrate weist die isoliert perfundierte Rattenniere auch eine herabgesetzte Resorptionsrate für Kalium und Natrium und ein erhöhtes Harnzeitvolumen auf. (FÜLGRAFF [25] registrierte an der isoliert perfundierten Rattenniere auch eine herabgesetzte Calcium-

resorption im proximalen Tubulus). Allerdings differierten die Ergebnisse verschiedener Forschergruppen hinsichtlich der Kalium- und Natriumresorptionsrate z. T. beträchtlich (siehe Tab. 14a). Die Glucoseresorption lag in den verglichenen Arbeiten über die isolierte, zellfrei perfundierte Rattenniere mit über 95% in der ersten Perfusionsstunde annähernd im physiologischen Bereich; das trifft auch zu für unsere Perfusionen (vgl. Tabb. 8, 14a sowie Abb. 14). Wahrscheinlich steht über einen Zeitraum von ca. 60 Minuten (z. T. auch länger) die für den Glucosetransport erforderliche Energie auch an der isolierten Niere zur Verfügung. Die Natrium- und Kaliumresorption war in unseren Versuchen stärker eingeschränkt als bei anderen Autoren und betrug in der ersten Perfusionsstunde im Mittel 60% der glomerulären Filtrationsrate (vgl. Tabb. 5,6 und Abb. 11,12). Die verminderte tubuläre Resorptionsquote für Natrium und Kalium könnte durch Transport- (fehlende Energie für einen voll leistungsfähigen aktiven Pumpmechanismus ?) oder Resorptionsstörungen verursacht sein. Ferner ist zu bedenken, daß an der isoliert perfundierten Niere alle Steuerungsmechanismen, die das Organ in vivo aufweist, ausgeschaltet sind. Wir hatten in allen Versuchen unserem Perfusionsmedium Aldosteron (0,2 mg/l) zugesetzt, können aber keine Aussage über die Effektivität machen. DUME und Mitarbeiter [21] konnten durch Zugabe von Aldosteron zum Perfusionsmedium (1,5 mg/l) keine Erhöhung der Netto-Natriumresorption an der isoliert perfundierten Rattenniere feststellen. (Aldosteron bewirkt in vivo ohnehin bilanzmäßig nur die Einsparung von ca. 2% des filtrierten Natriums, was quantitativ für Perfusionsversuche irrelevant ist.)
Die isolierte Niere verliert nach einer kurzen Phase normaler Funktion die Fähigkeit, einen konzentrierten Harn zu bilden; die Zugabe von Adiuretin (0,1-1,0 mg/h) bleibt wirkungslos (NIZET [84]).
Mikropunktionsuntersuchungen von BAHLMANN und Mitarbeitern [2] sprechen dafür, daß bei der isoliert perfundierten Rattenniere hauptsächlich die Funktion des proximalen Tubulus gestört ist. Es fanden sich im proximalen Tubulus nur ca. 40% des filtrierten Na^+ gegenüber ca. 60% in vivo; im distalen Tubulus noch ca. 24% gegenüber ca. 10% in vivo. Verkürzte proximale Passagezeit und

erhöhter Volumenstrom in der Henleschen Schleife könnten die Resorptionskapazität für Natrium, Kalium und Wasser herabsetzen; außerdem könnte das interstitielle Marködem, das sich intra perfusionem entwickelt, die Wirksamkeit des Gegenstromaustauschprinzips in der Henleschen Schleife mindern und den Harnkonzentrierungsmechanismus zum Erliegen bringen. (Letzteres bedingt möglicherweise auch die relative Unempfindlichkeit der isolierten Niere für ADH.) Die Folge der proximal herabgesetzten Resorption wäre eine Überlastung der distalen Nephronabschnitte, deren Resorptionskapazität überschritten wird, wodurch es zur Natriurese, Kaliurese und vermehrter Diurese kommt. Die Kaliurese könnte z. T. auch verursacht werden durch Läsion von Tubuluszellen (zunehmender Druck und Gewebshypoxie intra perfusionem?) und den Verlust intrazellulären Kaliums.

Außer den diskutierten physiologischen Parametern untersuchten wir orientierend die biochemische Funktionsfähigkeit unseres Nierenpräparates. Wir prüften die Nierengewebsatmung, das Redoxsystem Lactat/Pyruvat und die Gluconeogenese aus Pyruvat im perfundierten Nierengewebe.
Wir maßen die Atmung von Nierenschnitten am prozentualen Sauerstoffschwund (Ausgangskonzentration 100%) aus dem Inkubationspuffer (siehe 3.7.1.). Eine quantitative Messung des Sauerstoffverbrauches war aus technischen Gründen nicht möglich. Verglichen mit Nierenrindenschnitten von Kontrollratten war die Sauerstoffaufnahme im Rindengewebe nach 60 Minuten Perfusionsdauer um ca. 50% herabgesetzt (vgl. Tab. 9 und Abb. 15-21). In Korrelation dazu fanden wir nach einstündiger Perfusionsdauer auch eine starke Einschränkung der sauerstoffabhängigen Natrium- und Kaliumresorption (bis auf ca. 20% des 'loads'). Wird in atmenden Geweben der sog. kritische Sauerstoffdruck an den Mitochondrien unterschritten, kommt es zu einer Abnahme des Sauerstoffverbrauchs. DUME und Mitarbeiter [21] stellten bei Untersuchungen an der isolierten, zellfrei perfundierten Rattenniere fest, daß es nach Unterschreiten des sog. kritischen venösen Sauerstoffdruckes zu einer signifikanten Abnahme der prozentualen Natrium- und Wasserresorption kam, verbunden mit erhöhten intratubulären Drucken und Verminderung des effektiven Filtrationsdruckes sowie der glomerulären Filtrationsraten. Gleichzeitig beobachteten sie einen Anstieg des Quotienten

Netto-Natriumtransport/Sauerstoffaufnahme und eine Zunahme der Lactatkonzentration im Perfusionsmedium (Untersuchungen im Recycling-Verfahren). Die Autorenschlossen daraus, daß im Sauerstoffmangel aus glykolytischen Prozessen Energie für die Natriumresorption gewonnen werden kann. (Im Nierenmark ist die anaerobe Glykolyse größer als in der Rinde. Vgl. u. a. SCAGLIONE et al. 1965 [98].)

Bei Versuchen von DUME et al. lag der kritische venöse Sauerstoffdruck mit 30-40 mm Hg auffällig hoch. WEISS und Mitarbeiter [39] gaben für isolierte Nierenzellen der Ratte einen kritischen pO_2 von 16,5 mm Hg an. An der isolierten, mit einer Blutersatzlösung perfundierten Rattenniere bestehen durch Sauerstoffdiffusionskurzschlüsse zwischen arteriellen und venösen Gefäßen sowie durch eine ungleichmäßige Blutdurchströmung möglicherweise Verhältnisse, die von denen in vivo abweichen und einen kritischen Sauerstoffdruck vortäuschen, der zu hoch liegt. Aus dem Sauerstoffverbrauch von Gewebeschnitten kann man keine unmittelbaren Schlußfolgerungen auf die Verhältnisse im perfundierten Organ ziehen. Bei Gewebsschnitten gelangt der Sauerstoff durch Diffusion in das Innere der Schnitte und wird z. T. auf dem Weg dorthin von den Zellen verbraucht. Um für die Zellen im Inneren der Gewebsschnitte noch eine Sauerstoffspannung zu gewährleisten, die oberhalb des sog. kritischen Sauerstoffdruckes liegt, sind sehr dünne Rindenschnitte erforderlich. Allerdings werden dabei zahlreiche Zellen zerstört oder beschädigt, so daß die Sauerstoffaufnahme in unkontrollierbarer Weise beeinträchtigt werden kann (vgl. WEISS et al. [35]). Da KREBS und Mitarbeiter [80] an der isoliert perfundierten Niere eine Stabilität der Adenin-Nucleotide über 90 Minuten registrierten, ist auch am isolierten Organ unter Perfusionsbedingungen ein ungestörter Ablauf der oxidativen Atmungskettenphosphorylierung in den Mitochondrien anzunehmen.

In unseren Versuchen war nach einstündiger Perfusion die Atmung im Nierengewebe herabgesetzt. Gleichzeitig stieg der Lactat/Pyruvat-Quotient an, und zwar von Kontrollwerten um 35 auf etwa 60 (siehe 5.2.2.; Tabb. 10 und 11). Vergleichswerte aus der Literatur lagen für die isoliert perfundierte Niere nicht vor.

Bei der Rattenleber beträgt der Lactat/Pyruvat-Quotient in vivo 10 und bleibt auch an der perfundierten Leber für ca. 3 Stunden konstant. Allerdings steigen bereits nach 30 Minuten Perfusion Lactat und Pyruvat gleichermaßen auf mehr als das Doppelte der Ausgangs-

konzentration (SCHIMASSEK 1963 [99]).
Nierenrindenschnitte der Ratte enthalten nach NEEDLEMAN und Mitarbeitern (1968 [78]) 0,5 µMol Lactat/g Feuchtgewicht, Markschnitte das Doppelte; nach 60 Sekunden Ischämie erhöht sich der Lactatgehalt in der Rinde auf das Vierfache, im Mark auf das Siebenfache der jeweiligen Ausgangskonzentration; der Glykogengehalt in der Rinde fällt auf Null, der des Markes (Ausgangskonzentration 3-4mal so hoch wie in der Rinde) um die Hälfte; ATP - Ausgangskonzentration in Mark und Rinde gleich (1,6 µMol/g Feuchtgewicht) - fällt nach 60 Sekunden dauernder Ischämie in der Rinde auf ca. 1/8, im Mark auf die Hälfte des Ausgangswertes ab. Der Gehalt der Nierenrinde an energiereichem Phosphat - ATP, Kreatinphosphat und Glucose-6-phosphat - ist etwas geringer als im Mark; nach 120 Sekunden Ischämie weist die Medulla einen etwas höheren Verbrauch auf als die Rinde. Auch GERLACH und Mitarbeiter (1963 [31]) stellten eine starke Beeinträchtigung des Nucleotid- und Phosphatstoffwechsels der Rattenniere bei kurzdauernder Ischämie fest, jedoch auch eine sehr gute Erholungsfähigkeit. KREBS und Mitarbeiter [80,41] registrierten an der isoliert perfundierten Rattenniere ein intaktes ATP/ADP- und NAD/$NADH_2$-System; nach temporärer Ischämie während der Nierenpräparation fiel zwar der Quotient ATP/ADP bei gleichzeitigem Anstieg von AMP, nach 30 Minuten Perfusion war eine Restitutio ad integrum eingetreten. Auch an der isoliert perfundierten Rattenleber stellten die Autoren eine Stabilität der Adenin-Nucleotide fest.
Unter physiologischen Verhältnissen in vivo stammt der Hauptteil der für die Niere erforderlichen Energie aus dem oxidativen Abbau der Fettsäuren (NICHOLLS 1965 [79]). Darüberhinaus finden in der Niere ständig eine Netto-Glucoseaufnahme und ein Glucoseabbau statt (vgl. u. a. BAHLMANN et al. [1]). Im Bedarfsfall ist die Nierenrinde zur Gluconeogenese in einer Größenordnung bis zu 10% des Gewebstrockengewichtes/Stunde fähig (KREBS et al. [61]), und zwar unabhängig von der Natur des dazu verarbeiteten Substrates. In der Niere ist überwiegend Glucose das Endprodukt der Gluconeogenese, da Glykogen nur in geringeren Mengen gespeichert werden kann. Der Glykogengehalt der Rattenniere beträgt in vivo 0,01%, der Glucosegehalt 0,05% (korrespondierende Werte für die Leber in vivo sind 10 bzw. 0,5%; vgl. KREBS et al. [60]).

Die höchste Gluconeogeneserate wird sowohl in vivo als auch in vitro erzielt, wenn der Niere Pyruvat als Substrat zur Verfügung steht. KREBS und Mitarbeiter [60,61,80], die in der von uns berücksichtigten Literatur die höchsten Werte für die Glucoseneubildung mitteilten, erzielten an Rindenschnitten der Rattenniere aus Pyruvat (Substratkonzentration 10^{-2} m) im Mittel folgende Werte: bei Tieren unter Standard-Diät 225 µMol/g Nierentrockengewicht pro Stunde, bei Tieren nach 48 Stunden Nahrungskarenz 340 µMol und während der Perfusion isolierter Rattennieren (im Recycling-Verfahren) 300 µMol. In unseren Versuchen (siehe 3.7.3.; Tab. 12) erreichten wir sowohl bei Kontrolltieren als auch an Rindenschnitten von Nieren, die 60 Minuten perfundiert worden waren, bei Verwendung von Pyruvat als Substrat (Konzentration 10^{-2} m) nur eine Netto-Glucoseproduktion (d. h. nach Abzug der nicht aus exogen zugeführtem Pyruvat gebildeten Glucose) von ca. 12 µMol/g Nierentrockengewicht/Stunde. Ungefähr in gleicher Größenordnung liegt die basale Glucoseneubildung aus endogenem Substrat in der Rattenniere (vgl. u. a. KREBS et al. [80,61], GOODMAN et al. 1966 [34]).

BAHLMANN und Mitarbeiter [1] erzielten während der Perfusion (Recycling-Verfahren) isolierter Hundenieren mit Blut einen Glucosegewinn von ca. 13 µMol/g Nierentrockengewicht/Stunde. (Sie bestimmten die Gluconeogenese aus dem Abfall der spezifischen Aktivität von ^{14}C-Glucose, erfaßten allerdings bei ihren Berechnungen nur die Neubildung von ^{14}C-Glucose, nicht aber die Gluconeogenese aus ^{14}C-markierten Metaboliten des Glucoseabbaues. Ferner berücksichtigten sie nicht, daß es bei der Gluconeogenese zum Austausch zwischen den markierten Metaboliten des Glucoseabbaus und den unmarkierten Metaboliten vom Substrat der Glucoseneubildung kommt. Hinweis von KREBS in [1].) Andere Autoren erzielten bei Experimenten über die Gluconeogenese in vitro ebenfalls Glucoseraten, die niedriger lagen als die von KREBS mitgeteilten (u. a. RUSSELL et al. 1941 [97] 160 µMol/g Nierentrockengewicht/h, LANDAU 1960 [62] 30 µMol, JOSEPH et al. 1968 [51] 90 µMol; als Substrat diente jeweils Pyruvat).

Ursache der geringen Gluconeogeneserate bei unseren Versuchen ist - auch wenn man annehmen darf, daß ein Teil der neugebildeten Glucose während der Inkubation wieder verbraucht wird - sehr wahrscheinlich das inadaequate Sauerstoffangebot in 2,0 ml Inkubationspuffer für 200 mg Nierenrindenfeuchtgewebe (entsprechend ca.

50 mg Trockengewicht für Rindenschnitte von Kontrollnieren und ca. 37 mg Trockengewicht für Rindengewebe nach Perfusion) über eine Inkubationsdauer von 2 Stunden. KREBS [80,60] hatte jeweils 8-10 mg Trockengewicht (entsprechend ca. 32-40 mg Feuchtgewicht) in mindestens 4,0 ml Puffer für 60 Minuten inkubiert, d. h. seinem Nierengewebe mehr als das Zehnfache an Sauerstoff bei halb so langer Inkubationsdauer angeboten. Wenn KREBS mehr als 10 mg Trockengewicht inkubierte, registrierte er einen Abfall der Glucoseneubildung [60].
Bei unseren Versuchen waren die Glucosezuwachsraten sowohl in Kontrollschnitten als auch im Nierengewebe nach der Perfusion gleich groß. Deshalb muß die Frage offenbleiben, ob während der Perfusion unseres Nierenpräparates eine Inaktivierung des für die Gluconeogenese aus Pyruvat erforderlichen Enzym-Systems eintrat oder ob der Redox-Status intra perfusionem durch Sauerstoffmangel gestört war. Zugabe des Gluconeogenesehemmstoffes MICA (5-Methoxy-Indol-2-Carbonsäure) - er hemmt die Pyruvatkinase [6] - in einer Konzentration von 10^{-3} m führte in allen Versuchen zu einer deutlichen Hemmung der Gluconeogenese.

Unsere Perfusionsversuche hatten eine zufriedenstellende Funktion unseres Nierenpräparates ergeben; jedoch war die tubuläre Resorptionsfähigkeit für Natrium, Kalium und Wasser erheblich eingeschränkt. Da andere Autoren, die unter vergleichbaren Bedingungen arbeiteten, eine bessere, wenn auch niemals optimale tubuläre Funktionsleistung der isolierten Niere erzielten (vgl. Tab. 14a), hoffen wir, mit zunehmender Erfahrung auf dem Gebiet der isolierten Nierenperfusion operativ-präparative Unzulänglichkeiten und nach Möglichkeit jede Irritation des Organs intra operationem und perfusionem zu vermeiden, um die Leistungsfähigkeit unseres Nierenpräparates zu steigern. In verschiedenen Perfusionsversuchen hatten wir schon gute Resultate erzielt, so daß weitere Bemühungen erfolgversprechend sind. Besonders zu beachten sind: Schonende und zügige Operation ohne Zerrung an Organ und Gefäßstiel; Vermeidung einer größeren Blutung während der Präparation und der Einführung der Aortenkanüle (Blutdruckabfall, Gefahr der 'Schockniere'!); Konstanterhaltung der Organtemperatur (schon bei Absinken um wenige Grade kann irreversible Vasokonstriktion der Niere eintreten!) und kontinuierliche Durchströmung der Niere bereits in situ; gute

Lagerung der Niere im Thermostaten ohne Zerrung an Gefäßen oder Ureter und unter Vermeidung einer Abflußbehinderung (Druckanstieg im Organ!).

Wir wollten kein Versuchsmodell für nierenphysiologische Untersuchungen entwickeln. Solche Untersuchungen sind aber erforderlich, um die Leistungsfähigkeit des isolierten Organs beurteilen zu können. Ziel dieser Arbeit ist die Beantwortung der eingangs gestellten Frage: Eignet sich die isoliert perfundierte Rattenniere als Versuchsmodell für die Pharmakokinetik?

Pharmakokinetik ist die 'Lehre von der quantitativen Auseinandersetzung zwischen Organismus und einverleibtem Pharmakon' (DOST in [20] 1968); die Frage nach dem Wirkungsmechanismus steht nicht im Vordergrund, in erster Linie interessieren die Konzentrationsverläufe der Pharmaka und ihrer Metabolite innerhalb der Kompartimente des Organismus. Wesentliche Größen für die Pharmakokinetik sind: Geschwindigkeit und Quote der Resorption, Bindung an Eiweißkörper, Verteilung im Organismus und Vollständigkeit sowie Geschwindigkeit des Abbaus oder der Elimination.

Demnach bietet sich die isoliert perfundierte Niere als Versuchsmodell u. a. für folgende Fragestellungen an: Wird ein Pharmakon glomerulär filtriert? Wird es auch tubulär resorbiert und in welcher Höhe? Findet eine tubuläre Ausscheidung statt? (Glomerulär filtriert und tubulär sezerniert werden z. B. Sulfonamide, Penicillin, Röntgenkontrastmittel; glomerulär filtriert und tubulär resorbiert werden z. B. Barbiturate und Harnstoff; ausschließlich glomerulär ausgeschieden werden z. B. Inulin und Mannit.) Die meisten Pharmaka werden in Abhängigkeit vom pK-Wert, pH-Wert und von der Lipoidlöslichkeit per diffusionem resorbiert. Die tubuläre Rückdiffusion steigt mit zunehmender Lipoidlöslichkeit. Zur tubulären Rückdiffusion bevorzugt befähigt ist der nicht dissoziierte Anteil eines Pharmakons.

Mit abnehmender Wasserstoffionen-Konzentration (= zunehmendem pH-Wert) nimmt die Dissoziation schwacher Säuren zu, ihre tubuläre Rückdiffusion ab, und die Ausscheidung im Urin wird vermehrt; die Dissoziation schwacher Basen nimmt analog dazu ab, ihre tubuläre Rückdiffusion steigt, und die Ausscheidung im Harn sinkt (Literatur bei MILNE [75] sowie WEISS et al. [15,118]). Hierauf bezugnehmend untersuchten WEISS und Mitarbeiter [15,118] die Ausscheidung einiger Aminosäuren und ihrer Ester in Abhängigkeit vom Urin-pH an der

isoliert perfundierten Rattenniere. Auch das isolierte Organ ist in der Lage, unter Perfusionsbedingungen den Urin-pH in Abhängigkeit vom pH des Perfusionsmediums einzustellen (bei pH 7,4 des Perfusionsmediums liegt der pH-Wert im Urin zwischen 5,5 und 6,4; bei pH-Änderungen der Perfusionslösung zwischen 7,1 und 7,75 schwankt er im Urin zwischen 4,9 und 8,1. Vgl. WEISS et al. [15, 118] und BAUMAN et al. [5]). Mit steigender intratubulärer Wasserstoffionen-Konzentration nimmt auch an der isoliert perfundierten Niere die Dissoziation der Aminosäuren ab, ihre tubuläre Rückdiffusion zu, und ihre Ausscheidung im Harn sinkt; die Aminosäureester weisen im sauren Harn ihr Ausscheidungsmaximum auf. Ist die Clearance einer renal ausgeschiedenen Substanz kleiner als die glomeruläre Filtrationsrate, kann eine tubuläre Resorption angenommen werden, ist sie größer, kann auf eine zusätzliche tubuläre Ausscheidung geschlossen werden. Es ist jedoch noch zu berücksichtigen, daß bei der isoliert perfundierten Niere die Inulin-Clearance als Maß der glomerulären Filtration niedriger liegt als in vivo. Nur wenn auch an der isolierten Niere die Clearance einer untersuchten Substanz in gleichem Maße abnimmt wie die Inulin-Clearance, sind Berechnungen der tubulären Resorptions- bzw. Ausscheidungsquote möglich. Die Größe der Inulin-Clearance wird durch Änderungen des Urin-pH nicht beeinflußt.

Wir prüften die isoliert perfundierte Rattenniere als pharmakokinetisches Modell mit dem Natriumsalz des [Phenyl-^{3}H]-Glymidins (Redul$^{(R)}$). Diese Substanz schließt sich formell an die Sulfonylharnstoffe Tolbutamid und Chlorpromazid an; sie stimuliert die Insulinfreisetzung aus den ß-Zellen des Pankreas. Glymidin wird bei Mensch und Tier rasch und vollständig aus dem Darm resorbiert, bei einer Plasmakonzentration von 10 mg% (diese Konzentration verwendeten wir auch in unseren Perfusionsversuchen) zu etwa 90% an Plasmaeiweiß, überwiegend Albumin, gebunden, ist gut lipoidlöslich und wird tubulär fast vollständig resorbiert (Literatur bei KRAMER et al. [56], KOLB et al. [55], GERHARDS et al. [26,27,28,29], GERHARDS [30]).

In unseren Perfusionsversuchen wurde Glymidin innerhalb der ersten 10-20 Minuten zu etwa 90% tubulär resorbiert, nach 30-50 Minuten zu etwa 75% (vgl. Tab. 13 und Abb. 22). Im Harn der Ratte erscheinen in vivo nach 30 Minuten 5%, nach 60 Minuten ca. 9% der oralen ^{3}H-Glymidin-Natrium-Eingabe.

Die Dissoziationskonstante von Glymidin ist 5,7 (KRAMER et al. [56]); die tubuläre Rückdiffusion müßte bei niedriger intratubulärer H^+-Konzentration am größten sein. Unter der Voraussetzung, daß die Na^+-Resorptionshemmung der isolierten Niere im proximalen Tubulus lokalisiert ist (BAHLMANN et al. [2]) mit entsprechender Erhöhung der intraluminalen Na^+-Konzentration, könnte die aktive H^+-Sekretion im proximalen Tubulus vermindert sein. (Zwar wird der Urin-pH im Verlauf des gesamten Nephrons durch aktive Sekretion von Wasserstoffionen beeinflußt, der Hauptanteil der Sekretion soll jedoch im proximalen Tubulus stattfinden. Vgl. SCHIRMEISTER [100].) Für die Rückdiffusion von Glymidin würden dann günstige Bedingungen vorliegen. Sehr wahrscheinlich stellt sich bei anhaltender Perfusion infolge zunehmender Nierenschwellung eine Störung der tubulären Rückdiffusionsvorgänge ein mit Abnahme auch der Glymidinresorption.

Die Ausscheidungscharakteristik des Glymidins in vivo läßt sich an der isoliert perfundierten Rattenniere reproduzieren; sie erscheint demnach als Versuchsmodell für die Pharmakokinetik geeignet. Allerdings muß die Brauchbarkeit des Modells für pharmakokinetische Untersuchungen durch Einsatz weiterer Substanzen geprüft werden, deren renaler Ausscheidungsmodus bekannt ist. Hierzu sind auch Bestimmungen des Urin-pH erforderlich. Wenn es gelingt, die Funktionsfähigkeit des isolierten Nierenpräparates weiter zu verbessern, könnten auch nierenpharmakologische Untersuchungen möglich sein.

7. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wurden Operationstechnik (nach WEISS) und Perfusionsapparatur für ein Präparat der isolierten Rattenniere detailliert beschrieben und grafisch dargestellt, so daß ein Nachvollzug ohne Schwierigkeiten möglich ist.
Die Operationstechnik mußte neu erlernt, die Perfusionsapparatur - wichtigster Bestandteil ist der Thermostat - neu entwickelt werden, da unsere pharmakologische Arbeitsgruppe bislang auf diesem Gebiet keine Erfahrung hatte. Unser Ziel war die Schaffung eines isolierten Nierenpräparates, das als Versuchsmodell für die Pharmakokinetik verwendet werden kann.

Die Funktionsfähigkeit dieser isoliert perfundierten Rattenniere wurde durch einige physiologische und biochemische Parameter geprüft, die folgende Resultate ergaben:
Bei einem Perfusionsdruck von 130-140 mm Hg betrug die arteriovenöse Durchflußrate initial ca. 10 ml/min/g Nierenfeuchtgewicht, fiel nach 90 Minuten Perfusion auf durchschnittlich 2 ml/min/g.
Die Inulin-Clearance zeigte nach 60 Minuten Perfusionsdauer ein Maximum von 0,4 ml/min/g Nierenfeuchtgewicht, fiel dann kontinuierlich auf 0,1 ml/min/g.
Die Harnvolumina lagen zwischen 0,05 und 0,15 ml/min/g Nierenfeuchtgewicht; in der ersten Versuchshälfte war ein steiler Anstieg, dann ein langsamer, kontinuierlicher Abfall der Harnmengen zu verzeichnen.
Die tubulären Rückresorptionsquoten betrugen nach einstündiger Perfusionsdauer für Glucose 97-92%, für Natrium, Kalium und Wasser 70-50% und fielen dann kontinuierlich ab.
Der Sauerstoffverbrauch von Rindenschnitten 60 Minuten lang perfundierter Nieren war im Vergleich zu Kontrollen um ca. 50% herabgesetzt.
Der Lactat/Pyruvat-Quotient betrug an Kontrollnieren im Mittel 33, nach 60 Minuten Perfusionsdauer in den perfundierten Nieren 60. Nach 60 Minuten Perfusionsdauer war in Rindenschnitten der Nieren zwar noch die Fähigkeit zur Gluconeogenese erhalten, wegen inadaequater Sauerstoffversorgung erzielten wir jedoch - wie auch an Kontrollschnitten - nur ca. 12 µMol Glucose/g Nierentrockengewicht/Stunde aus dem Substrat Pyruvat.

Die Brauchbarkeit unseres Nierenpräparates als Modell für die Pharmakokinetik wurde durch Perfusionsversuche mit [Phenyl-^{3}H]-Glymidin-Natrium (Redul$^{(R)}$) geprüft. Glymidin ist ein oral wirkendes Antidiabeticum und wird in vivo bei Mensch und Tier fast vollständig tubulär resorbiert. Bei 10-20 Minuten Perfusionsdauer betrug die tubuläre Resorptionsquote im Mittel 90%, nach 60 Minuten Perfusionsdauer lag sie bei 65% (in vivo erscheinen im Harn der Ratte 30 Minuten nach oraler Verabreichung ca. 5%, nach 60 Minuten ca. 9%). Mithin ist die isoliert perfundierte Rattenniere als pharmakokinetisches Modell durchaus geeignet. Weitere pharmakokinetische Untersuchungen sind erforderlich, um die Brauchbarkeit dieses Modells zu erhärten.

Die Ursachen für die Funktionseinschränkungen der isoliert perfundierten Rattenniere gegenüber den Verhältnissen in vivo wurden diskutiert und die - allerdings begrenzten - Möglichkeiten zu gesteigerter Leistungsfähigkeit gezeigt.

8. LITERATURVERZEICHNIS

[1] BAHLMANN, J., OCHWADT, B. und SCHRÖDER, E.:
Über den Glucose- und Lactat-Stoffwechsel von isolierten Hundenieren.
Arch. ges. Physiol. 286, 207 (1965)

[2] BAHLMANN, J., GIEBISCH, G., OCHWADT, B. und SCHOEPPE, W.:
Micropuncture study of isolated perfused rat kidney.
Amer. J. Physiol. 212, 77 (1967)

[3] BAINBRIDGE, F.A. und EVANS, C.L.:
The heart, lung, kidney preparation.
J. Physiol. 48, 278 (1914)

[4] BAŞAR, E., TISCHNER, H. und WEISS, CH.:
Untersuchungen zur Dynamik druckinduzierter Änderungen des Strömungswiderstandes der autoregulierenden, isolierten Rattenniere.
Arch. ges. Physiol. 299, 191 (1968)

[5] BAUMAN, A.W., CLARKSON, TH.W. und MILES, E.M.:
Functional evaluation of isolated perfused rat kidney.
J. Appl. Physiol. 18, 1239 (1963)

[6] BAUMAN, N. und HILL, C.J.:
Inhibition of gluconeogenesis and α-keto oxidation by 5-Methoxy-indole-2-carboxylic acid.
Biochemistry 7, 1322 (1968)

[7] BAUMANN, K., OELERT, H., RUMRICH, G. und ULLRICH, K.J.:
Ist Inulin zur Messung des Glomerulumfiltrates beim Warmblüter geeignet?
Arch. ges. Physiol. 282, 238 (1965)

[8] BAUMGARTEN, H.G., LEICHTWEISS, H.-P. und WEISS, CH.:
Untersuchungen über die Bedeutung sympathischer Überträgerstoffe bei der Autoregulation des Perfusionsvolumenstroms der Rattenniere.
Arch. ges. Physiol. 299, 214 (1968)

[9] BERLINER, R.W., KENNEDY, T.J. und ORLOFF, J.:
Factors affecting the transport of potassium and hydrogen ions by the renal tubules.
Arch. int. Pharmacodyn. 97, 299 (1954)

[10] BERGMEYER, H.-U. in:
BERGMEYER, H.-U.: Methoden der enzymatischen Analyse.
A: Experimentelles. Photometrische Methoden, S. 37 (1962)
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße

[11] BEYER, H.:
Lehrbuch der organischen Chemie, 9. Aufl., S. 592 (1962)
S. Hirzel Verlag, Leipzig

[12] BICKFORD, R.J. und WINTON, F.R.:
The influence of temperature on the isolated kidney of the dog.
J. Physiol. 89, 198 (1937)

[13] BIDDER, E.:
Beiträge zur Lehre von der Funktion der Nieren.
Diss. Dorpat (1862), zitiert nach JACOBJ [49]

[14] BRADE, W., HERKEN, H. und MERKER, H.J.:
Schädigung und Regeneration renaler Tubuluszellen nach Folsäuregabe.
Arch. Pharmak. exp. Path. 262, 228 (1969)

[15] BRAUN, W., ZSCHALER, W. und WEISS, CH.:
Der Einfluß von Änderungen des Urin-pH auf die Ausscheidung von Aminosäuren an der isoliert perfundierten Rattenniere.
Arch. Pharmak. exp. Path. 256, 397 (1967)

[16] BRODIE, T.G.:
The perfusion of surviving organs.
J. Physiol. 29, 266 (1903)

[17] BUNGE, G. und SCHMIEDEBERG, O.:
Über die Bildung der Hippursäure.
Arch. Pharmak. exp. Path. 6, 233 (1877)

[18] DEETJEN, P. und KRAMER, K.:
Die Abhängigkeit des O_2-Verbrauchs der Niere von der Natriumrückresorption.
Arch. ges. Physiol. 273, 636 (1961)

[19] DEETJEN, P. und BOYLAN, J.W.:
Glucose reabsorption in the rat kidney. Microperfusion studies.
Arch. ges. Physiol. 299, 18 (1968)

[20] DOST, F.H.:
Grundlagen der Pharmakokinetik, 2. Aufl. (1968)
Thieme Verlag, Stuttgart

[21] DUME, TH., KOCH, K.M., KRAUSE, H.H. und OCHWADT, B.:
Kritischer venöser Sauerstoffdruck an der erythrozytenfrei perfundierten Rattenniere.
Arch. ges. Physiol. 290, 89 (1966)

[22] EULER, U.S. von und HEYMANS, C.:
An oxygenator for perfusion experiments.
J. Physiol. 74, 2 (1932)

[23] FREY, M. von und GRUBER, M.:
Ein Respirationsapparat für isolierte Organe.
Arch. Anat. Physiol. 519 (1885)

[24] FÜLGRAFF, G.:
Die Wirkung von Calciumionen auf die renale Ausscheidung und tubuläre Resorption von Wasser und Elektrolyten.
Habilitationsschrift, Freiburg 1967

[25] FÜLGRAFF, G., HEHNE, H.J., SPARWALD, E. und HEIDENREICH, O.:
Die Wirkung von Calciumionen auf die glomeruläre Filtrationsrate und die Elektrolyt- und Wasserausscheidung von intakten und isoliert perfundierten Rattennieren.
Arch. int. Pharmacodyn. 172, 49 (1968)

[26] GERHARDS, E., GIBIAN, H. und KOLB, K.H.:
2-Benzolsulfonamido-5(ß-methoxy-äthoxy)-pyrimidin (Glycodiazin), eine neue blutzuckersenkende Substanz.
I. Der Stoffwechsel von Glycodiazin beim Menschen.
Arzneim.Forsch. 14, 394 (1964)

[27] GERHARDS, E. und KOLB, K.H.:
2-Benzolsulfonamido-5(ß-methoxy-äthoxy)-pyrimidin (Glycodiazin); II. Der Stoffwechsel von 2-Bezolsulfonamido-5(ß-hydroxy-äthoxy)-pyrimidin, einem blutzuckersenkenden Metaboliten des Glycodiazin, beim Menschen.
Arzneim.Forsch. 15, 1375 (1965)

[28] GERHARDS, E., GIBIAN, H. und KOLB, K.H.:
Über 2-Benzolsulfonylamino-5-(ß-methoxy-äthoxy)-pyrimidin (Glycodiazin); III. Glycodiazin-Plasmaspiegel und blutzuckersenkende Wirkung beim Menschen, sowie der Einfluß von Glycodiazin auf die Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse.
Z. physiol. Chem. 343, 150 (1965)

[29] GERHARDS, E., KOLB, K.H. und SCHULZE, P.E.:
Über 2-Benzolsulfonylamino-5(ß-methoxy-äthoxy)-pyrimidin (Glycodiazin); V. In vitro- und in vivo-Versuche zum Einfluß von Phenyläthylbarbitursäure (Luminal) auf den Stoffwechsel und die blutzuckersenkende Wirkung des Glycodiazins.
Arch. Pharmak. exp. Path. 255, 200 (1966)

[30] GERHARDS, E.:
Über 2-Benzolsulfonylamino-5(ß-methoxy-äthoxy)-pyrimidin (Glycodiazin); VII. Zum Mechanismus der Entmethylierung des Glycodiazins.
Arzneim.Forsch. 18, 704 (1968)

[31] GERLACH, E., DEUTICKE, B. und DREISBACH, R.H.:
Zum Verhalten von Nucleotiden und ihren dephosphorylierten Abbauprodukten in der Niere bei Ischämie und kurzzeitiger post-ischämischer Wiederdurchblutung.
Arch. ges. Physiol. 278, 296 (1963)

[32] GERTZ, K.H., MANGOS, J.A., BRAUN, G. und PAGEL, H.D.:
On the glomerular tubular balance in the rat kidney.
Arch. ges. Physiol. 285, 360 (1965)

[33] GIBBON, J.H. jr.:
An oxygenator with a large surface-volume ratio.
J. Lab. Clin. Med. 24, 1192 (1939)

[34] GOODMAN, A., FUISZ, R.E. und CAHILL, G.F. jr.:
Renal gluconeogenesis in acidosis, alkalosis, and potassium deficiency: its possible role in regulation of renal ammonia production.
J. Clin. Invest. 45, 612 (1966)

[35] GRUBE, G., PHILIPPS, K. und WEISS, CH.:
Die Wirkung von Änderungen der Natriumkonzentration im Suspensionsmedium und von Strophanthin auf die Sauerstoffaufnahme isolierter Nierenzellen der Ratte.
Z. ges. exp. Med. 143, 150 (1967)

[36] GUTMAN, Y., GOTTSCHALK, C.W. und LASSITER, W.E.:
Micropuncture study of inulin absorption in the rat kidney.
Science 147, 735 (1965)

[37] HARGITAY, B. und KUHN, W.:
Das Multiplikationsprinzip als Grundlage der Harnkonzentrierung in der Niere.
Z. Elektrochem. 55, 539 (1951)

[38] HÁRSING, L., SZÁNTO, G. und BARTHA, J.:
Renal circulation during stop flow in the dog.
Amer. J. Physiol. 213, 935 (1967)

[39] HEINTZE, A. und WEISS, CH.:
Die kritische Sauerstoffspannung isolierter Rattennierenzellen.
Arch. ges. Physiol. 283, R. 36 (1965)

[40] HEMINGWAY, A.:
Some observations on the perfusion of the isolated kidney by a pump.
J. Physiol. 71, 201 (1931)

[41] HEMS, R., ROSS, B.D., BERRY, M.N. und KREBS, H.A.:
Gluconeogenesis in the perfused rat liver.
Biochem. J. 101, 284 (1966)

[42] HESS, B. in:
BERGMEYER, H.-U.: Methoden der enzymatischen Analyse.
A: Zell- und Gewebsaufschluß, S. 43 (1962)
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße

[43] HIERHOLZER, K., WIEDERHOLT, M. und STOLTE, H.:
Hemmung der Natriumresorption im proximalen und distalen Konvolut adrenalektomierter Ratten.
Arch. ges. Physiol. 291, 43 (1966)

[44] HIERHOLZER, K.:
Klinisch wichtige Aspekte moderner Auffassungen der Nierenphysiologie.
D. Med. J. 19, 657 (1968)

[45] HILGER, H.H., KLÜMPER, J.D. und ULLRICH, K.J.:
Wasserrückresorption und Ionentransport durch die Sammelrohrzellen der Säugetierniere.
Arch. ges. Physiol. 267, 218 (1958)

[46] HINSHAW, L.B., DAY, S.B. und CARLSON, C.H.:
Tissue pressure as a causal factor in the autoregulation of blood flow in the isolated perfused kidney.
Amer. J. Physiol. 197, 309 (1959)

[47] HINSHAW, L.B., FLAIG, R.D., LOGEMANN, R.L. und CARLSON, C.H.:
Intrarenal venous and tissue pressure and autoregulation of blood flow in the perfused kidney.
Amer. J. Physiol. 198, 891 (1960)

[48] HOOKER, D.R.:
A study of the isolated kidney. The influence of pulse pressure upon renal secretion.
Amer. J. Physiol. 27, 24 (1910)

[49] JACOBJ, C.:
Apparat zur Durchblutung isolirter überlebender Organe.
Arch. Pharmak. exp. Path. 26, 388 (1890)

[50] JACOBJ, C. und SOBIERANSKI, W. von:
Über das Functionsvermögen der künstlich durchbluteten Niere.
Arch. Pharmak. exp. Path. 29, 25 (1892)

[51] JOSEPH, P.K. und SUBRAHMANYAM, K.:
Effect of growth hormone, insulin, thyroxine and cortisone on renal gluconeogenesis.
Arch. Biochem. Biophys. 127, 288 (1968)

[52] KIIL, F. und AUKLAND, K.:
Renal concentration mechanism and hemodynamics at increased ureteral pressure during osmotic and saline diuresis.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 13, 276 (1961)

[53] KLEINMAN, L.I., RADFORD, jr., E.P. und TORELLI, G.:
Urea and inulin clearances in undisturbed, unanesthetized rats.
Amer. J. Physiol. 208, 576 (1965)

[54] KIRSTEN, E., KIRSTEN, R., LEAF, A. und SHARP, G.W.:
Increased activity of enzymes of the tricarboxylic acid cycle in response to aldosterone in the toad bladder.
Arch. ges. Physiol. 300, 213 (1968)

[55] KOLB, K.H., KRAMER, M. und SCHULZE, P.E.:
Resorption, Verteilung und Ausscheidung von radioaktiv markiertem 2-Benzolsulfonamido-5(ß-methoxy-äthoxy)-pyrimidin (Glycodiazin) im Tierversuch.
Arzneim.Forsch. 14, 385 (1964)

[56] KRAMER, M., HECHT, G., LANGECKER, H., HARWART, A., RICHTER, K.-D. und GLOXHUBER, CH.:
Pharmakologie des 2-Benzolsulfonamido-5(ß-methoxy-äthoxy)-pyrimidins (Glycodiazin), einer neuen blutzuckersenkenden Verbindung.
Arzneim.Forsch. 14, 377 (1964)

[57] KRAMER, K. und WINTON, F.R.:
The influence of urea and of change in arterial pressure on the oxygen consumption of the isolated kidney of the dog.
J. Physiol. 96, 87 (1939)

[58] KRAMER, K., THURAU, K. und DEETJEN, P.:
Hämodynamik des Nierenmarks. I. Mitteilung. Capilläre Passagezeit, Blutvolumen, Durchblutung, Gewebshämatokrit und O_2-Verbrauch des Nierenmarks in situ.
Arch. ges. Physiol. 270, 251 (1960)

[59] KRAUSE, H.H., DUME, TH., KOCH, K.M. und OCHWADT, B.:
Intratubulärer Druck, glomerulärer Capillardruck und Glomerulumfiltrat nach Furosemid und Hydrochlorothiazid.
Arch. ges. Physiol. 295, 80 (1967)

[60] KREBS, H.A., BENNETT, A.H., GASQUET, P. de, GASCOYNE, T. und YOSHIDA, T.:
Renal gluconeogenesis. The effect of diet on the gluconeogenic capacity of rat-kidney-cortex-slices.
Biochem. J. 86, 22 (1963)

[61] KREBS, H.A., HEMS, R. und GASCOYNE, T.:
Renal gluconeogenesis; IV. Gluconeogenesis from substrate combinations.
Acta biol. med. germ. 11, 607 (1963)

[62] LANDAU, B.R.:
Gluconeogenesis and pyruvate metabolism in rat kidney, in vitro.
Endocrinology 67, 744 (1960)

[63] LASSITER, W.E., FRICK, A., RUMRICH, G. und ULLRICH, K.J.:
Influence of ionic calcium on the water permeability of proximal and distal tubules in the rat kidney.
Arch. ges. Physiol. 285, 90 (1965)

[64] LEICHTWEISS, H.-P., SCHRÖDER, H. und WEISS, CH.:
Die Beziehung zwischen Perfusionsdruck und Perfusionsstromstärke an der mit Paraffinöl perfundierten isolierten Rattenniere.
Arch. ges. Physiol. 293, 303 (1967)

[65] LEICHTWEISS, H.-P. und WEISS, CH:
Untersuchungen über den Mechanismus der Autoregulation der Nierendurchblutung.
Bruns Beitr. Klin. Chir. 214, 100 (1967)

[66] LIEBAU, G., LEVINE, D.Z. und THURAU, K.:
Micropuncture studies on the dog kidney; I. The response of the proximal tubule to changes in systemic blood pressure within and below the autoregulatory range.
Arch. ges. Physiol. 304, 57 (1968)

[67] LIEW, J.B. van, DEETJEN, P. und BOYLAN, J.W.:
Glucose reabsorption in the rat kidney. Dependence and glomerular filtration.
Arch. ges. Physiol. 295, 232 (1967)

[68] LJUNGQVIST, A.:
Structure of the arteriole-glomerular units in different zones of the kidney. Microangiographic and histologic evidence of an extraglomerular medullary circulation.
Nephron 1, 329 (1965)

[69] LOCKETT, M.:
Hormonal actions of the heart and of lungs on the isolated kidney.
J. Physiol. 193, 661 (1967)

[70] LOEBELL, C.E.:
De conditionibus quibus secretiones in glandulis perficiuntur.
Diss. Marburg, 1849; zitiert nach JACOBJ [49]

[71] LUDWIG, C.:
Arbeiten aus der physiologischen Anstalt zu Leipzig (1868), 113; (1869), 1; zitiert nach JACOBJ [49]

[72] MALNIC, G., KLOSE, R.M. und GIEBISCH, G.:
Micropuncture study of renal potassium excretion in the rat.
Amer. J. Physiol. 206, 674 (1964)

[73] MARSH, D.J., ULLRICH, K.J. und RUMRICH, G.:
Micropuncture analysis of the behavior of potassium ions in rat renal cortical tubules.
Arch. ges. Physiol. 277, 107 (1963)

[74] MARSH, D. und FRASIER, CH.:
Reliability of inulin for determining volume flow in rat renal cortical tubules.
Amer. J. Physiol. 209, 283 (1965)

[75] MILNE, M.D.:
Renal pharmacology.
Ann. Rev. Pharmacol. 5, 119 (1965)

[76] MORRISON, A.B. und HOWARD, R.M.:
The functional capacity of hypertrophied nephrons. Effect of partial nephrectomy on the clearance of inulin and PAH in the rat.
J. exp. Med. 123. 829 (1966)

[77] NASHAT, F.S. und PORTAL, R.W.:
The effects of changes in hematocrit on renal function.
J. Physiol. 193, 513 (1967)

[78] NEEDLEMAN, P., PASSONNEAU, J.V. und LOWRY, O.H.:
Distribution of glucose and related metabolites in rat kidney.
Amer. J. Physiol. 215, 655 (1968)

[79] NICHOLLS, D.M.
Glycolysis in normal and nephrotic rat kidney.
Canad. J. Biochem. 43, 1717 (1965)

[80] NISHIITSUTSUJI-UWO, J.M., ROSS, B.D. und KREBS, H.A.:
Metabolic activities of the isolated perfused rat kidney.
Biochem. J. 103, 852 (1967)

[81] NIZET, A., CUYPERS, Y., MASSILON, L. und LAMBERT, S.:
Mise en évidence de facteurs réduisant le débit sanguin et libérés par les hématies.
Arch. Internat. Physiol. Bioch. 65, 468 (1957)

[82] NIZET, A. und CUYPERS, Y.:
Extraction, à partir des hématies, de deux fractions douées d'activité vasoconstrictrice sur le rein.
Arch. Internat. Physiol. Bioch. 65, 642 (1957)

[83] NIZET, A.:
Recherches sur le rein isolé perfusé par un système artificiel.
Bull. Acad. Roy. Méd. Belge 7è sér. 283 (1963)

[84] NIZET, A., CUYPERS, Y., DEETJEN, P. und KRAMER, K.:
Functional capacity of the isolated perfused dog kidney.
Arch. ges. Physiol. 296, 179 (1967)

[85] NIZET, A.:
Excretion of water and sodium loading by isolated perfused dog kidney.
Arch. ges. Physiol. 297, 156 (1967)

[86] NIZET, A.:
Control by plasma potassium concentration of sodium excretion by isolated perfused dog kidney.
Arch. ges. Physiol. 297, 162 (1967)

[87] NIZET, A.:
Influence of serumalbumin and dextran on sodium and water excretion by the isolated dog kidney.
Arch. ges. Physiol. 301, 7 (1968)

[88] NIZET, A., GODON, J.P. und MAHIEU, P.:
Quantitative excretion of water and sodium load by isolated dog kidney: Autonomous renal response to blood dilution factors.
Arch. ges. Physiol. 304, 30 (1968)

[89] OCHWADT, B.:
Zur Selbststeuerung des Nierenkreislaufes.
Arch. ges. Physiol. 262, 207 (1956)

[90] PAQUET, K.J.:
Experimentelle Untersuchungen zur Funktion der isolierten Niere bei pulsatorischer und kontinuierlicher Perfusion. 2. Mitteilung.
Bruns Beitr. Klin. Chir. 211, 463 (1965)

[91] PETERS, G.:
Glomeruläre Clearancen, p-Aminohippursäure-Clearance und Diurese bei verschiedenen Diureseformen der nicht narkotisierten Ratte.
Arch. Pharmak. exp. Path. 235, 113 (1959)

[92] RAUBER, A. und KOPSCH, F.:
Lehrbuch und Atlas der Anatomie des Menschen.
Bd. II, 19. Aufl., S. 191 (1955); Thieme-Verlag, Stuttgart

[93] RICHARDS, A.N. und DRINKER, C.K.:
An apparatus for the perfusion of isolated organs.
J. Pharmac. exp. Therap. 7, 467 (1915)

[94] ROHDE, R., DEETJEN, P. und HARDT, K.:
Die Glucoseresorption in der Rattenniere. Mikropunktionsanalysen der tubulären Glucosekonzentration bei freiem Fluß.
Arch. ges. Physiol. 302, 219 (1968)

[95] ROSENFELD, S., KRAUS, R. und McCULLEN, A.:
Effect of renin, ischemia, and plasma protein loading on the isolated perfused kidney.
Amer. J. Physiol. 209, 835 (1965)

[96] RUEDAS, G. und WEISS, CH.:
Die Wirkung von Änderungen der Natriumkonzentration im Perfusionsmedium und von Strophanthin auf die Glucoseresorption der isolierten Rattenniere.
Arch. ges. Physiol. 298, 12 (1967)

[97] RUSSELL, J.A. und WILHELMI, A.E.:
Glyconeogenesis in kidney tissue of the adrenalectomized rat.
J. Biol. Chem. 140, 747 (1941)

[98] SCAGLIONE, P.R., DELL, R.B. und WINTERS, R.W.:
Lactate concentration in the medulla of rat kidney.
Amer. J. Physiol. 209, 1193 (1965)

[99] SCHIMASSEK, H.:
Metabolite des Kohlenhydratstoffwechsels der isoliert perfundierten Rattenleber.
Biochem. Z. 336, 460 (1963)

[100] SCHIRMEISTER, J. in:
HEILMEYER, L.: Lehrbuch der speziellen pathologischen Physiologie. Pathophysiologie der Niere.
11. Aufl., S. 306 (1968); Thieme-Verlag, Stuttgart

[101] SCHMIDT, A.:
Arbeiten aus der physiologischen Anstalt zu Leipzig (1869), 99; zitiert nach SKRAMLIK [104]

[102] SCHRÖDER, W. von:
Über die Bildungsstätte des Harnstoffs.
Arch. Pharmak. exp. Path. 15, 364 (1882)

[103] SHEHADEH, I., MAUDE, D.L., SCOTT, W.N. und SOLOMON, A.K.:
Absorption of inulin by the renal tubule of the rat.
Physiologist 7, 254 (1964)

[104] SKRAMLIK, E. von:
Ein Apparat zur Durchströmung der Leber.
Arch. ges. Physiol. 179/180, 1 (1920)

[105] SPECTOR, W.S. (Hrsgb.):
Handbook of Biological Data; Tabb. 307 und 308.
W.B. Saunders, Philadelphia (1956)

[106] STARLING, E.H. und VERNEY, E.B.:
The secretion of urine as studied on the isolated kidney.
Proc. Roy. Soc. (B) 97, 321 (1925)

[107] THURAU, K. und KRAMER, K.:
Reaktionsweise der glatten Muskulatur der Nierengefäße auf Dehnungsreize und ihre Bedeutung für die Autoregulation des Nierenkreislaufes.
Arch. ges. Physiol. 268, 188 (1959)

[108] THURAU, K. und KRAMER, K.:
Weitere Untersuchungen zur myogenen Natur der Autoregulation des Nierenkreislaufes. Aufhebung der Autoregulation durch muskulotrope Substanzen und druckpassives Verhalten des Glomerulumfiltrates.
Arch. ges. Physiol. 269, 77 (1959)

[109] THURAU, K., DEETJEN, P. und KRAMER, K.:
Hämodynamik des Nierenmarks. II. Mitteilung. Wechselbeziehungen zwischen vasculärem und tubulärem Gegenstromsystem bei arteriellen Drucksteigerungen, Wasserdiurese und osmotischer Diurese.
Arch. ges. Physiol. 270, 270 (1960)

[110] THURAU, K. und SCHNERMANN, J.:
Die Natriumkonzentration an den Macula densa-Zellen als regulierender Faktor für das Glomerulumfiltrat (Mikropunktionsversuche).
Klin. Wschr. 43, 410 (1965)

[111] THURAU, K., VALTIN, H. und SCHNERMANN, J.:
Kidney
Ann. Rev. Physiol. 30, 441 (1968)

[112] ULLRICH, K.J. und PEHLING, G.:
Aktiver Natriumtransport und Sauerstoffverbrauch in der äußeren Markzone der Niere.
Arch. ges. Physiol. 267, 207 (1958)

[113] ULLRICH, K.J., PEHLING, G. und ESPINAR-LAFUENTE, M.:
Wasser- und Elektrolytfluß im vasculären Gegenstromsystem des Nierenmarks.
Arch. ges. Physiol. 273, 562 (1961)

[114] UMBREIT, W.W., BURRIES, R.H. und STAUFFER, J.F.:
Manometric Techniques. Suspending media for animal tissue.
4. Aufl., S. 131 (1964); Burgess Publishing Comp., Minneapolis, Minn./USA

[115] WAHLER, B.E.:
Bestimmung von 2-20 γ Inulin in tierischen Geweben.
Z. physiol. Chem. 306, 84 (1956)

[116] WALDEYER, A.:
Anatomie des Menschen.
I. Teil, 3. Aufl., S. 200 (1957); W. de Gruyter, Berlin

[117] WEISS, CH., PASSOW, H. und ROTHSTEIN, A.:
Autoregulation of flow in the isolated rat kidney in the absence of red cells.
Amer. J. Physiol. 196, 1115 (1959)

[118] WEISS, CH., BRAUN, W. und ZSCHALER, W.:
Über den Einfluß von Änderungen des Urin-pH auf die Ausscheidung einiger Aminosäureester an der isoliert perfundierten Rattenniere.
Arch. Pharmak. exp. Path. 258, 83 (1967)

[119] WIEDERHOLT, M., HIERHOLZER, K., SENFT, G. und HERKEN, H.:
Lokalisation der natriuretischen Wirkung von 6-Aminonicotinamid in der Rattenniere.
Arch. Pharmak. exp. Path. 261, 143 (1968)

[120] WINDHAGER, E.E.:
Kidney, water, and electrolytes.
Ann. Rev. Physiol. 31, 117 (1969)

ZEITSCHRIFTENVERZEICHNIS MIT SIGLEN-AUFLÖSUNG

Acta biol. med. germ.

Acta biologica et medica germanica

Amer. J. Physiol.

The American Journal of Physiology

Ann. Rev. Pharmacol.

Annual Review of Pharmacology

Ann. Rev. Physiol.

Annual Review of Physiology

Arbeiten aus der physiol. Anstalt zu Leipzig 1866-89

Aus: Berichte der mathemat.-phys. Classe der k. sächsischen Gesellschaft der Wissenschaft zu Leipzig. Hirzel-Verlag,Leipzig

Arch. Anat. Physiol. (Du Bois' Arch.)

Archiv für Physiologie (Archiv für Anatomie und Physiologie, Physiologische Abteilung); begründet von E. du Bois-Reymond; seit 1920 aufgegangen in Pflügers Archiv

Arch. Biochem. Biophys.

Archives of Biochemistry and Biophysics

Arch. ges. Physiol.

Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere

Arch. int. Pharmacodyn.

Archieves Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie

Arch. Internat. Physiol. Bioch.

Archieves Internationales de Physiologie et de Biochimie

Arch. Pharmak. exp. Path.

Naunyn-Schmiedebergs Archiv für Pharmakologie (und experimentelle Pathologie)

Arzneim.Forsch. (Drug Res.)

Arzneimittel-Forschung (Drug Research)

Biochem. J.

The Biochemical Journal

Biochem. Z.

Biochemische Zeitschrift

Biochemistry

Bull. Acad. Roy. Méd. Belge

Bulletin de l'Académie Royale de Médecin de Belgique

Bruns Beitr. Klin. Chir.

Bruns' Beiträge zur Klinischen Chirurgie

Canad. J. Biochem.

Canadian Journal of Biochemistry

D. Med. J.

Deutsches Medizinisches Journal

J. Biol. Chem.

The Journal of Biological Chemistry

Endocrinology

J. Appl. Physiol.

Journal of Applied Physiology

J. Clin. Invest.

The Journal of Clinical Investigation

J. exp. Med.

The Journal of experimental Medicine

J. Lab. Clin. Med.

Journal of Laboratory and Clinical Medicine

J. Pharmac. exp. Therap.

Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics

J. Physiol.

The Journal of Physiology

Klin. Wschr.

Klinische Wochenschrift

Nephron

Physiologist

The Physiologist

Proc. Roy. Soc. (B)

Proceedings of the Royal Society London (Biological Sciences)

Scand. J. Clin. Lab. Invest.

Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation

Science

Z. Elektrochem.

Zeitschrift für Elektrochemie und angewandte physikalische Chemie (seit 1963 fortgesetzt unter dem Titel: Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie)

Z. ges. exp. Med.

Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin

Z. physiol. Chem.

Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie

ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS

		Seite
Abb. 1	Operationssitus (schematische Darstellung	9
Abb. 2	Perfusionsapparatur (schematische Darstellung)	11
Abb. 3a	Thermostat in Außenansicht	12
Abb. 3b	Thermostat mit herausgezogener Nierenhalterung	12
Abb. 4a	Frontalansicht des Thermostaten (techn. Zeichnung)	13
Abb. 4b	Querschnitt durch den Thermostaten (techn. Zeichng.)	13
Abb. 5	Inulin-Eichkurve	16
Abb. 6	Eichkurve des Durchflußmessers	20
Abb. 7	Aortenkanüle, Cavakatheter und Ureterkatheter	24
Abb. 8	Arteriovenöse Durchflußrate	30
Abb. 9	Inulin-Clearance	31
Abb. 10	Harnvolumen	32
Abb. 11	Natrium-Resorption	33
Abb. 12	Kalium-Resorption	34
Abb. 13	Wasser-Resorption	35
Abb. 14	Glucose-Resorption	36
Abb. 15-21	Sauerstoffverbrauch von Nierenrindenschnitten	39-40
Abb. 22	Glymidin-Resorption	44
Schema des Operationsverlaufs		10
Tab. 1	Zusammensetzung des Perfusionsmediums	14
Tab. 2	Arteriovenöse Durchflußrate	30
Tab. 3	Inulin-Clearance	31
Tab. 4	Harnvolumen	32
Tab. 5	Natrium-Resorption	33
Tab. 6	Kalium-Resorption	34

Tab. 7 Wasser-Resorption 35

Tab. 8 Glucose-Resorption 36

Tab. 9 Sauerstoffverbrauch von Nierenrindenschnitten 37

Tab. 10 Lactat- und Pyruvatgehalt und Lactat/Pyruvat-Quotient im Nierengewebe der Ratte 41

Tab. 11 Lactat- und Pyruvatgehalt und Lactat/Pyruvat-Quotient in perfundiertem Nierengewebe 42

Tab. 12 Gluconeogenese aus Pyruvat im Nierenrindengewebe 43

Tab. 13 Glymidin-Resorption 44

Tabb. 14a und 14b Datenvergleiche zur Perfusion isolierter Nieren 46-47

APPARATE, INSTRUMENTE, MATERIALIEN

Photometer Eppendorf	Eppendorf Gerätebau, Hamburg
Spektralphotometer, PMQ II	Carl Zeiss, Oberkochem/Württ.
Stereomikroskop III	Carl Zeiss, Oberkochem/Württ.
Tri-Carb-Scintillation-Spectrometer, Modell 3375	Packard Instrument Comp., Inc., Downers Grove, Ill.
Autoanalyzer	Technicon GmbH, Frankfurt/M.
Biological Oxygen Monitor YS, Modell 53	Yellow Springs Instrument Co., Inc., Yellow Springs, Ohio
Rollenpumpe, Nr. 3331066	Groschopp und Co., Göttingen
Reduzierventil, Standard-Doppel-Regulus, Nr. 22843	Drägerwerk, Lübeck
Durchflußmesser mit Schlauchanschluß Modell D 10A 1017A, Größe 3	Fischer und Porter, Göttingen
Operationstisch für kleine Labortiere, Nr. 876030	B.Braun, Apparatebau, Melsungen
Homogenisator, Nr. 2870	B.Braun, Apparatebau, Melsungen
Thermostat für die Nierenperfusion	Mechanische Werkstatt der Schering AG, Berlin/Bergkamen
Glasteile der Perfusionsapparatur	Glasbläserei der Schering AG
Uhrmacherpinzette, Nr. 4, Dumont, (spitze Federpinzette)	
Dieffenbach-Klemmen	
Operationsseide, Nr. 5 (000)	B.Braun, Apparatebau, Melsungen
Schlauchverbindungen der Perfusionsapparatur aus elastischem Polyäthylen	
Ureter-Katheter und Cava-Katheter aus starrem Polyäthylen	

PHARMAKA UND CHEMIKALIEN

Adenin	Boehringer Mannheim GmbH
Aldosteron pharm.	Serva, Heidelberg
Biochemica-Test-Combinationen:	Boehringer Mannheim GmbH
Blutzucker (GOD-Methode)	
Brenztraubensäure (UV-Test, TC-C)	
Milchsäure (UV-Test, TC-B)	
Calciumchlorid, wasserfrei	Schering AG, Berlin/Bergkamen
Erycinum(R)	
D-Glucose, 10% H_2O	
Guanosin p.A.	Serva, Heidelberg
Haemaccel(R), elektrolytarm, als Trockenhaemaccel	Behring Werke, Marburg/Lahn
Harnstoff	Schering AG, Berlin/Bergkamen
Heparin-Natrium p.A.	
Inosin p.A.	Serva, Heidelberg
Inulin puriss., pyrogenfrei	Dtsch. Laevosan-Gesellschaft, Boehringer Mannheim GmbH
Kaliumchlorid p.A.	Schering AG, Berlin/Bergkamen
Magnesiumchlorid p.A.	
MICA (5-Methoxyindol-2-carbonsäure), puriss.	Fluka, Neu-Ulm
Natriumacetat	Schering AG, Berlin/Bergkamen
Natriumchlorid p.A.	
Natrium-α-Ketoglutarat	Schuchard, München
Natriummalat	
prim. Natriumphosphat p.A.	Merck AG, Darmstadt
sek. Natriumphosphat p.A.	
Nembutal(R)	Dtsch. Abbott GmbH, Ingelheim
Redul(R), Glymidin-Natrium	Farbenfabriken Bayer AG, Leverkusen, und Schering AG, Berlin/Bergkamen
[Phenyl-^{3}H]-Glymidin-Natrium	Schering AG, Berlin/Bergkamen
Rinderalbumin, trocken, reinst	Behring Werke, Marburg/Lahn

Danken möchte ich allen, die mir bei dieser Arbeit geholfen haben:

Prof. Dr. Dr. E. Gerhards hat diese Arbeit angeregt und betreut.

Die Schering AG, Berlin/Bergkamen, ermöglichte die Durchführung aller hier beschriebenen Versuche und zahlte mir ein Doktorandenstipendium.

Herr Mechanikermeister K. Andresen baute den Thermostaten.

Fräulein H. Otto übernahm die Reinschrift des Manuskriptes.

Prof. Dr. Ch. Weiss und Dr. G. Ruedas (beide Physiologisches Institut der Universität in Hamburg) demonstrierten mir ihre Operationstechnik.

LEBENSLAUF

Ich, Monika Förster geb. Morcinek, wurde am 30. Dezember 1937 in Berlin geboren. Dort ging ich auch zur Schule und erwarb am 30. Mai 1956 das Reifezeugnis an der Theresienoberschule in Ostberlin, zu dem ich nach einjährigem Sonderlehrgang in Westberlin eine Ergänzungsprüfung ablegte.

An der Freien Universität Berlin begann ich am 16. Oktober 1957 das Studium der Humanmedizin, das ich am 20. März 1964 mit der ärztlichen Prüfung abschloß. Die Medizinalassistentenzeit (Mai 1964 bis Mai 1966) absolvierte ich in Berlin. Am 6. Juli 1966 erhielt ich die Approbation als Arzt.

Meine Assistentenzeit begann ich bei Prof. F. Stein am Pathologischen Institut des Städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhauses in Berlin (1. Juli 1966 bis 30. Juni 1967). Danach arbeitete ich unter Anleitung von Privatdozent Dr. Dr. E. Gerhards in der Abteilung für Biologische Chemie der Schering AG in Berlin am experimentellen Teil dieser Dissertation (Herbst 1967 bis April 1969).

Am 1. Juni 1969 begann ich unter Prof. M. Broglie an den Kliniken der Landeshauptstadt Wiesbaden die Facharztausbildung für Innere Medizin, die ich aus familiären Gründen (Geburt zweier Kinder) vorläufig unterbrochen habe.

Monika Förster

(Monika Förster)